

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**



**“EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO E  
INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*) VS MANZANILLA  
(*Matricaria chamomilla*) SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO  
2018”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**KATYA RINA CONDORI PARI**

**MARIELA KATIA APAZA MAMANI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**CIRUJANO DENTISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

“EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) Y MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*)  
SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO 2018”

PRESENTADA POR:

Bach. KATYA RINA CONDORI PARI

Bach. MARIELA KATYA APAZA MAMANI



PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

CIRUJANO DENTISTA

Sustentada el 11 de junio del 2018

APROBADA POR EL JURADO DICTAMINADOR:

PRESIDENTE:

  
Dr. JORGE LUIS MERCADO PORTAL


PRIMER MIEMBRO:

  
M.Sc. LOURDES LIDIA PACORICONA VILLASANTE

SEGUNDO MIEMBRO:

  
M.Sc. CARLOS VIDAL CUTIMBO QUISPE

DIRECTOR / ASESOR:

  
Dra. TANIA KAROLA PADILLA CACERES

Área : Biología del sistema estomatognatico.

Tema : Fitoterapia: Productos naturales de uso en odontología.

Fecha de sustentación: 11-Junio del 2018

## DEDICATORIA

A Dios por concederme la dicha de la vida, por sus bendiciones y protección en cada instante de mi vida.

A mis amados padres Elías y Nancy quienes fueron mi apoyo incondicional, mi mejor ejemplo de empeño, amor y perseverancia, a quienes les debo mis mayores logros.

A mis queridos hermanos: Alejandro, Candy y Maria mis confidentes, quienes con sus éxitos, pese a los obstáculos, me han enseñado a nunca darse por vencido.

KATYA

A ti oh Dios, porque me has dado sabiduría y fuerza.

A mis padres Lucio y Clemencia por mostrarme el camino hacia la superación.

A mis hermanos Judith, Yenny, Ronald y Makenssi por brindarme su tiempo y su hombro.

A mis amigos quienes me han apoyado y a todos los que me prestaron ayuda.

MARIELA

## AGRADECIMIENTOS

A la Docente-Doctora Tania Carola Padilla Caceres, por su apoyo y orientación prestada durante la elaboración del presente trabajo de investigación.

Al licenciado Lorgio Palacios Frisancho de la facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional del Altiplano, por colaborar durante la ejecución de la investigación, por brindarnos su tiempo, paciencia y comprensión.

A mis jurados los Docente: Dr. Jorge Luis Mercado Portal, Mg Lourdes Lidia Pacoricona Villasante, Mg Carlos Vidal Cutimbo Quispe, por su disposición y apoyo en la culminación de este trabajo.

A los Docentes de la Escuela Profesional de Odontología de la Universidad Nacional del Altiplano, por los momentos compartidos y por sus conocimientos transmitidos durante el Pregrado.

A todos aquellos que de alguna manera contribuyeron para la realización y culminación de esta investigación.

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	10
ABSTRACT .....	11
I. INTRODUCCIÓN .....	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	14
2.1. ANTECEDENTES .....	14
2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES .....	14
2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES .....	16
2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES .....	17
2.2. MARCO TEÓRICO .....	18
2.2.1. FITOTERAPIA .....	18
2.2.2. TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> ) .....	21
2.2.3. MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) .....	23
2.2.5. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES ..	30
2.2.6. PLACA DENTAL .....	33
2.2.7. CONTROL QUÍMICO DE LA PLACA DENTAL .....	36
2.3. HIPÓTESIS .....	38
2.3.1. HIPÓTESIS ALTERNA .....	38
2.3.2. HIPÓTESIS NULA .....	38
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	39
3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO .....	39
3.1.1. ÁMBITO GENERAL .....	39
3.1.2. ÁMBITO ESPECÍFICO .....	39
3.2. TIPO DE ESTUDIO .....	39
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA .....	40
3.3.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MUESTRA .....	40
3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	41
3.5. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	41
3.6. MATERIALES .....	42
3.7. OBTENCIÓN DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> ) Y MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) .....	43
3.8. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> ) Y MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) .....	43
3.9. OBTENCIÓN DE LAS INFUSIONES DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> ) Y MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) .....	44

3.10. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y PRODUCTOS DE EXPERIMENTACIÓN .....	44
3.11. OBTENCIÓN DE LA BACTERIA INDICADORA.....	45
3.11.1. Recolección de la muestra de experimentación para <i>Prevotella intermedia</i> .....	45
3.11.2. Preparación del medio de cultivo.....	45
3.11.3. Aislamiento de las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> .....	46
3.12. RECOCOCIMIENTO MICROSCÓPICO Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE <i>Prevotella intermedia</i> .....	47
3.13. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD MICROBIANA POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR SEGÚN KIRBY BAUER .....	48
3.13.1. Preparación del agar Mueller Hinton.....	48
3.13.2. Preparación del estándar 0,5 McFarland para el inóculo.....	48
3.13.3. Inoculación de las placas .....	48
3.13.4. Aplicación de los discos .....	48
3.13.5. Incubación.....	49
3.13.6. Lectura de las placas e interpretación de los resultados .....	49
3.14. PLAN DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	49
3.15. CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	50
3.16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
4.1. RESULTADOS .....	51
4.2. DISCUSIÓN .....	67
V. CONCLUSIONES.....	71
VI. RECOMENDACIONES .....	72
VII. REFERENCIAS .....	73
VIII. ANEXOS.....	77

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°1:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) al 25%, 50%. 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.....	51
<b>Tabla N°2:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25%, 50%. 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas .....	53
<b>Tabla N°3:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la infusión al 25%, 50%. 75% y 100 de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ), sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas .....	55
<b>Tabla N°4:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la infusión de manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25 %, 50%. 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas .....	57
<b>Tabla N°5:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y de manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25 %, 50%. 75% y 100%, mediante halos de inhibición, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> a las 24 horas .....	59
<b>Tabla N°6:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25 %, 50%. 75% y 100%, mediante halos de inhibición, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> a las 48 horas... ..	61
<b>Tabla N°7:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de las infusiones de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25 %, 50%. 75% y 100% sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante halos de inhibición, a las 24 horas .....	63
<b>Tabla N°8:</b> Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de las infusiones de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamomilla</i> ) al 25 %, 50%. 75% y 100% sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante halos de inhibición, a las 48 horas .....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°1:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.....	52
<b>Figura N°2:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> del extracto etanólico de manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.....	54
<b>Figura N°3:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la infusión de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.....	56
<b>Figura N°4:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de la infusión al 25%, 50%, 75% y 100% de manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.....	58
<b>Figura N°5:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100%, mediante el halo de inhibición, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> a las 24 horas.....	60
<b>Figura N°6:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de los extractos etanólicos de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición, a las 48 horas.....	62
<b>Figura N°7:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de las infusiones de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 24 horas.....	64
<b>Figura N°8:</b> Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio <i>in vitro</i> de las infusiones al 25%, 50%, 75% y 100% de tiquil tiquil ( <i>Aloysia triphylla</i> ) y manzanilla ( <i>Matricaria chamonilla</i> ) sobre las cepas de <i>Prevotella intermedia</i> , mediante el halo de inhibición a las 48 horas.....	66



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

**DE:** desviación estándar

**DMS:** diferencia mínima significativa

**g:** gramo

**GE:** grupo experimental

**GE<sub>1</sub>:** grupo experimental

**GE<sub>2</sub>:** grupo experimental

**GE<sub>3</sub>:** grupo experimental

**GE<sub>4</sub>:** grupo experimental

**CMI:** concentración mínima inhibitoria

**MBC:** concentraciones bactericidas mínimas

**UFC:** unidades formadoras de colonias

**kg:** kilogramo

**LI:** límite inferior

**LS:** límite superior

**m<sup>3</sup>:** metro cúbico

**ml:** mililitro

**O.M.S.:** Organización Mundial de la Salud.

**T:** prueba de T

**v/p:** volumen peso

**UFC:** unidades formadoras de colonias

**µg:** microgramo

**µl:** microlitro

**et al:** y colaboradores.

**TIQUIL:** tiquil tiquil

**MANZ:** manzanilla

**CHX:**clorhexidina

## RESUMEN

**Objetivo:** evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) vs manzanilla (*Matricaria chamonilla*) sobre las cepas de *Prevotella Intermedia*. El cual se ejecutó en el laboratorio de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

**Materiales y métodos:** se obtuvieron extractos etanólicos e infusiones de tiquil tiquil y manzanilla a las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente. Se utilizó como control positivo la clorhexidina al 0,12% y como control negativo el agua destilada. Para determinar el efecto inhibitorio se utilizó el método de Kirby Bauer con 16 tratamientos y 12 repeticiones, con controles de los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. Se utilizó los análisis estadísticos de la prueba de t para la dispersión de datos, la prueba de análisis de varianza ANDEVA para observar la significancia y la prueba de Duncan para hacer las pruebas estadísticas de comparaciones.

**Resultados:** todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio *in vitro*, el mejor efecto inhibitorio se da con el tratamiento de extracto etanólico de manzanilla al 100% a las 24 horas siendo (12.53mm su promedio de halo inhibitorio) en relación al tratamiento con extracto etanólico tiquil tiquil al 100% a las 24 horas (cuyo promedio de halo inhibitorio fue 11.48mm). El menor efecto del halo de inhibición se dio con el tratamiento de infusión de tiquil tiquil al 25% a las 48 horas con un promedio de 6.24mm.

**Conclusiones:** todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Prevotella intermedia*, y que a mayor concentración del tratamiento mayor efectividad. Así mismo los tratamientos con extracto etanólico e infusión de manzanilla tiene mayor efecto inhibitorio en relación a los tratamientos correspondientes de tiquil tiquil tanto a las 24 como 48 horas. Y finalmente el efecto inhibitorio de todos los tratamientos disminuye a las 48 horas.

**Palabras claves (Keywords):** efecto inhibitorio, *Matricaria chamonilla*, *Aloysia triphylla*, *Prevotella intermedia*, enfermedad periodontal.

## ABSTRACT

**Objective:** to evaluate the *in vitro* inhibitory effect of the ethanolic extract and infusion of tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) vs manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) on the strains of *Prevotella intermedia*. Which was executed in the laboratory of Biological Sciences of the National University of the Highlands Puno.

**Materials and methods:** ethanol extracts and infusions of tiquil tiquil and manzanilla were obtained at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% respectively. Chlorhexidine 0.12% was used as a positive control and distilled water as a negative control. To determine the inhibitory effect, the Kirby Bahuier method was used with 16 treatments and 12 repetitions, with controls of the inhibition zones at 24 and 48 hours. It used the statistical analysis of the t test for the dispersion of data, the ANOVA variance analysis test to observe the significance and the Duncan test to make the statistical tests of comparisons.

**Results:** all the treatments have an inhibitory effect *in vitro*, the best inhibitory effect is given with the treatment of 100% ethanolic extract of chamomile at 24 hours (12.53mm its average inhibitory halo) in relation to the treatment with 100% ethanolic tiquil tiquil extract at 24 hours (whose average inhibitory halo was 11.48mm). The lowest effect of the inhibition halo was given with the treatment of 25% tiquil tiquil infusion at 48 hours with an average of 6.24mm.

**Conclusions:** that all treatments have an inhibitory effect *in vitro* on *Prevotella intermedia*, and that a higher concentration of the treatment is more effective. Likewise, treatments with ethanolic extract and chamomile infusion have a greater inhibitory effect in relation to the corresponding treatments of tiquil tiquil both at 24 and 48 hours. And finally, the inhibitory effect of all treatments diminishes after 48 hours.

**Keywords:** inhibitory effect, *Matricaria chamomilla*, *Aloysia triphylla*, *Prevotella intermedia*, periodontal disease.

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades periodontales comprenden un grupo de estados inflamatorios de los tejidos del soporte dentario inducidos por bacterias<sup>1</sup>. Provocando destrucción de los tejidos periodontales blandos y duros que dan soporte al diente en los que se incluye hueso alveolar, ligamento periodontal y encía<sup>2</sup>. Este padecimiento se caracteriza por ser una enfermedad infecciosa, indolora y lentamente progresiva. Es considerada como la segunda causa asociada a la pérdida dental<sup>3</sup>. Se consideran un problema de salud pública, ya que presenta una alta prevalencia y distribución a nivel mundial<sup>4</sup>. Según la OMS las enfermedades periodontales afectan cada vez con mayor frecuencia a los países en desarrollo, y en especial a las comunidades más pobres<sup>5</sup>.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad periodontal son producto de una compleja interacción entre el agente causal, en este caso bacterias específicas de la placa dental, y los tejidos del huésped. La placa dental está compuesta sobre todo por microorganismos; un gramo de placa (peso húmedo) contiene aproximadamente  $2 \times 10^{11}$  bacterias. En el plano microscópico, la formación de la placa dental representa una sucesión ecológica muy ordenada y previsible. En la cual *Prevotella intermedia* es colonizador secundario durante la fase de colonización secundaria y maduración de la placa<sup>1</sup>. Además, es uno de los microorganismos más implicados con respecto a las enfermedades periodontales<sup>6</sup>.

El tratamiento de la enfermedad periodontal sigue encaminado a eliminar mecánicamente el biofilm (placa bacteriana) que la causa, sin embargo, el tratamiento mecánico convencional no suele erradicar todas las bacterias periodontopatógenas<sup>5, 6</sup>. Por lo que también se utilizan sustancias antisépticas o antibióticas, mediante enjuagues bucales, que permiten reducir o retardar la formación de la placa bacteriana, al interferir en la adherencia de las bacterias a la superficie dental, alterar el metabolismo bacteriano o evitar la proliferación bacteriana, eliminando la placa ya establecida o alterando su patogenicidad<sup>7</sup>.

En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintas infusiones, extractos y aceites esenciales de plantas, para así coadyuvar en el control de la placa bacteriana<sup>8</sup>.

En el Perú las plantas medicinales representan aun la principal herramienta terapéutica en medicina tradicional. La manzanilla (*Matricaria chamomilla*) por sus múltiples beneficios médicos, se le ha atribuido propiedades antiinflamatorias y antisépticas. Por otro lado, tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) ha sido poco estudiada desde el punto de vista farmacológico. Sin embargo, estudios científicos han demostrado importantes propiedades antimicrobianas<sup>9,10</sup>.

Teniendo en cuenta la elevada prevalencia de la enfermedad periodontal y el costo beneficio que representa para la población que necesita alternativas de bajo costo (comunidades y zonas rurales), esta investigación tuvo como objetivo principal:

Evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) vs manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas.

Así mismo, tuvo como objetivos específicos:

- Evaluar efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas. Evaluar efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico al 25 %, 50%. 75% y 100% de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas. Evaluar efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas. Evaluar efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión al 25 %, 50%. 75% y 100% de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas. Comparar el efecto inhibitorio *in vitro*, sobre *Prevotella intermedia* de los extractos etanólicos al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a las 24 horas. Comparar el efecto inhibitorio *in vitro*, sobre *Prevotella intermedia* de los extractos etanólicos al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a las 48 horas. Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Prevotella intermedia*, de las infusiones al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a las 24 horas. Comparar el efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Prevotella intermedia*, de las infusiones al 25 %, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a las 48 horas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANTECEDENTES

#### 2.1.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Sotomayor J. (2017) Quito – Ecuador, realizó un estudio *in vitro* para determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de manzanilla al 100% y del ácido acético al 5% sobre la cepa de *Prevotella intermedia*. La obtención del aceite se realizó mediante la técnica de destilación por arrastre de vapor. Se colocaron los discos blancos estériles embebidos en 20µl de cada sustancia, tomando como control positivo clorhexidina al 0,12% y de control negativo al suero fisiológico. Posteriormente midieron los halos a las 24 horas. Los resultados mostraron un efecto inhibitorio por parte del aceite esencial de manzanilla al 100% frente a *Prevotella intermedia*, la cepa mostró resistencia al ácido acético al 5%. La clorhexidina al 0.12% mostró mayor efecto inhibitorio *in vitro* que en los grupos de estudio evaluados. Concluyeron así que la actividad antimicrobiana del aceite esencial de manzanilla al 100% es efectiva<sup>9</sup>.

Bharath N, Sowmya NK, Mehta DS (2017) Karnataka – India, realizaron un estudio para evaluar la actividad antibacteriana del extracto de grano de café verde puro en bacterias patógenas periodontales: *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Fusobacterium nucleatum* (Fn) y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). Se utilizaron las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) y las concentraciones bactericidas mínimas (MBC), para evaluar el efecto antibacteriano del extracto de grano de café verde puro frente a bacterias patógenas periodontales mediante el método de microdilución y el método de cultivo, respectivamente. De los resultados los valores MIC de Pg, Pi y Aa fueron de 0,2 µg/ml, mientras que Fn mostró sensibilidad a una concentración de 3,125 µg/ml. Los valores de MBC reflejan los mismos valores que el de MIC. Concluyeron que el extracto puro de café verde en grano tiene actividad antimicrobiana contra Pg, Pi, Fn y Aa<sup>11</sup>.

Mallikarjun S. et al (2017) Karnataka – India, realizaron un estudio para evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de hojas de tulsi (*Ocimum sanctum*) sobre los patógenos periodontales. El extracto etanólico de tulsi se preparó por el método de extracción en frío; el extracto se diluyó con dimetilformamida, para obtener cinco

concentraciones diferentes (0,5%, 1%, 2%, 5% y 10%). Se utilizó doxiciclina como un control positivo y la dimetilformamida, como control negativo. El extracto y los controles se sometieron a la investigación microbiológica contra *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*, para lo cual se empleó el método de difusión en agar. Los resultados demostraron actividad antimicrobiana de los extractos de tulsi, en concentraciones de 5% y 10%, contra *A. actinomycetemcomitans*, con zonas de inhibición similares a la doxiciclina ( $P > 0.05$ ). Sin embargo *P. gingivalis* y *P. intermedia*, mostraron resistencia al extracto de tulsi, ya que las zonas de inhibición fueron significativamente más pequeñas ( $P < 0.05$ ). Concluyeron así que tulsi es un antimicrobiano efectiva contra *A. actinomycetemcomitans*<sup>12</sup>.

González V. (2016) Quito – Ecuador. El objetivo de su estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano de las infusiones de manzanilla sobre *Actinomyces Odontolyticus* y *Actinomyces Viscosus* en 4 periodos de tiempo por 24 horas. De las flores de manzanilla se obtuvo la infusión al 20%. Las cepas fueron reactivadas, sembradas en agar Mueller Hinton e incubadas por 6 días a 35°C en un ambiente anaerobio. La infusión se puso en contacto con los microorganismos mediante el método de Kirby Bauer, para obtener halos de inhibición mediante la susceptibilidad por difusión de discos. La medición de los halos de inhibición se realizó a las 6-12-18-24 horas; los resultados mostraron medidas de 11 y 12 mm a las 6 horas, y medidas de 0 mm a las 12-18-24 horas. Las pruebas de Kruskal-Wallis reveló que no hay diferencia en la tendencia central de la población y Friedman indica que existe diferencia relevante entre los controles. Así concluyeron que la infusión de manzanilla es efectiva para el control microbiano bucal-dental, y que su uso preferencial es entre 4 a 6 horas<sup>13</sup>.

Medina D. y Chang E. (2017) Guatemala – Guatemala, evaluaron la manzanilla como tratamiento de gingivitis y enfermedad periodontal en perros domésticos. Para lo cual aplicaron la infusión de manzanilla (al 10 y 20%) y Clorhexidina al 0.02% como grupo control. Los tratamientos se aplicaron por aerosol dos veces al día durante un mes a 30 perros, previamente diagnosticados con gingivitis y/o periodontitis, los cuales se dividieron al azar en tres grupos de 10 individuos cada uno. Los signos clínicos fueron evaluados antes, durante y después de la aplicación de los tratamientos, acompañado de un hisopado de la cavidad oral, donde se determinó la cantidad de Unidades Formadoras

de Colonias (UFC). Los resultados mostraron que la infusión de manzanilla al 20% disminuyó el 84.83% (16,432 UFC) de la población bacteriana de los pacientes tratados y a su vez eliminó la placa bacteriana, además de reducir la inflamación gingival observada. La infusión de manzanilla al 10% disminuyó el 39.51% (5,559 UFC) de la población bacteriana y a su vez eliminó la placa bacteriana, pero solo redujo la inflamación gingival en la arcada superior de los pacientes tratados. Concluyeron que la manzanilla como infusión al 20% tiene efecto antiséptico superior a la infusión de manzanilla al 10%, y esta a su vez se traduce como disminución de presencia de placa bacteriana sobre la superficie dental<sup>14</sup>.

### 2.1.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Reaño C. (2014) Trujillo – Perú, realizó un estudio para evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Rosmarinus Officinalis* “romero”, *Mentha spicata* “hierva buena”, *Portulaca oleracea* “verdolaga” y *Taraxacum officinale* “diente de león”, sobre las bacterias *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*. Trabajó según el método de Kirby Bauer (modificado), sustituyéndose el disco de papel por pocillos, en agar Mueller Hinton solidificado. Utilizó una placa Petri para cada bacteria realizando la siembra de bacterias por superficie; utilizo 5 pocillos, en cada uno colocó 30 ul de la solución de extracto vegetal de cada una de las plantas en estudio a una concentración de 10 mg/ml. Como control positivo se utilizaron los discos de acitromicina (30 ug) y cloranfenicol (10ug). Se incubó a 37 °C y se examinó a las 24 horas, registrando los halos de inhibición de crecimiento bacteriano. Los resultados determinaron que los extractos de *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mentha Spicata* “hierva buena” a la concentración de 10 mg/ml, tuvieron actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, y no sobre *Echerichia coli* y *Salmonella enteritidis*, así mismo los extractos de *Portulaca oleracea* “verdolaga” y *Taraxacu offinale* “diente de león” a concentración de 10 mg/ml, no tuvieron actividad antibacteriana sobre los microorganismos. Concluyeron que *Rosmarinus officinalis* “romero”, *Aloysia Triphylla* “cedrón” y *Mentha Spicata* “hierva buena” tiene propiedad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*<sup>10</sup>.



### 2.1.3. ANTECEDENTES LOCALES

Talavera A. (2013) Puno – Perú, realizó un estudio para evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre *Streptococcus mutans*. Para lo cual se realizaron infusiones al 2%, 4%, 8% de *Matricaria chamomilla*. Utilizó como control positivo a la clorhexidina al 0,12% y como control negativo al agua mineral esterilizada. Para determinar el efecto antibacteriano de las infusiones utilizó la técnica de test de difusión en disco con cinco tratamientos y tres repeticiones. Realizó además el perfil de compuestos fenólicos de la infusión al 2% y del extracto hidroalcohólico de *Matricaria chamomilla* por cromatografía líquida de alta performance (HPLC). Los resultados mostraron que no hubo efecto antibacteriano *in vitro* de las infusiones sobre el *Streptococcus mutans*, ya que no presentaron halos de inhibición; sólo la clorhexidina al 0, 12% presentó un halo de inhibición de 2.5 mm en promedio. El extracto hidroalcohólico presentó mayor concentración de compuestos fenólicos en comparación con la infusión al 2% (37,51 y 26,95 mg/g muestra respectivamente). Concluyó que las infusiones de *Matricaria chamomilla*, no presentan propiedades antibacterianas sobre el *Streptococcus mutans*, y también que existe mayor concentración de compuestos fenólicos en el extracto hidroalcohólico que en la infusión al 2% de *Matricaria chamomilla*<sup>15</sup>.

Cano D. y Quispe A. (2017) Puno – Perú, el objetivo de su estudio fue determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre las cepas de *Streptococcus mutans*. El grupo experimental estuvo conformado por la infusión de *Caesalpinia spinosa* (Tara) a concentraciones de 50%, 75% y 100% y aceite esencial, la clorhexidina al 0.12% como control positivo y agua destilada para control negativo. La detección del efecto inhibitorio fue a través de la prueba de difusión de pocillos con disco de papel filtro y por el método de Kirby Bauer. Los resultados mostraron que la infusión de *Caesalpinia spinosa* tiene un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococcus mutans* en sus concentraciones de 50%, 75% y 100% con un promedio de 14.20mm, 16.57mm y 17.11mm a las 24 horas respectivamente y un promedio de 12.30 mm, 13.39 mm y 14.63 mm a las 48 horas. El aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* tiene un efecto inhibitorio mayor con respecto a la infusión con un promedio de 18.09mm a las 24 horas y con 15.04mm a las 48 horas. Concluyeron que la infusión de *Caesalpinia spinosa* tiene un efecto inhibitorio *in vitro* sobre las cepas de

*Streptococcus mutans*, y que a mayor concentración mayor efectividad. El efecto del aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* es mayor en comparación a la infusión. Los grupos experimentales son más efectivos a las 24 horas que a las 48 horas<sup>16</sup>.

Cahuana V. y Condori T. (2017) Puno – Perú, realizaron un estudio para determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre la bacteria *Streptococcus mutans* y el hongo *Candida albicans*, por lo que compararon el efecto inhibitorio en diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% respectivamente. La metodología utilizada es la técnica de cultivo propuesta por el Instituto Nacional de Salud y para la detección del efecto inhibitorio a través de la prueba de difusión de pocillos con disco de papel filtro combinado y por el método de Kirby Bauer. Los resultados mostraron que el extracto etanólico *Eucalyptus globulus* tiene actividad inhibitoria para la bacteria *Streptococcus mutans* con un promedio de halo de inhibición 11.85mm para una concentración del 25%, 13.3mm para una concentración del 50%, 13.97mm para una concentración del 75% y 15.54 mm para una concentración del 100%, la actividad anti fúngica para *Candida albicans* se dio con un promedio de 9.34mm para una concentración del 25%, 10.41mm para una concentración del 50%, 11.39mm para una concentración del 75% y 12.45mm para una concentración del 100%, lo que demuestra que a mayor halo inhibitorio se da a mayor concentración, siendo directamente proporcional. Concluyeron que el extracto etanólico del *Eucalyptus Globulus* presenta efecto inhibitorio sobre la cepa de la bacteria *Streptococcus mutans* y en el hongo *Cándida albicans*<sup>17</sup>.

## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. FITOTERAPIA

Desde un punto de vista etimológico fitoterapia proviene de dos vocablos griegos: *phytón* (planta) y *therapeía* (tratamiento) por lo tanto, el término se refiere a la "terapéutica con las plantas", es decir, a la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico<sup>2,18</sup>.

El hombre utiliza las plantas con fines medicinales desde tiempos prehistóricos. La incidencia que los productos de origen vegetal han tenido en la terapéutica ha variado a

lo largo del tiempo, en buena parte en relación con los avances del conocimiento científico<sup>18</sup> es aquí cuando inclusive la medicina toma un giro inesperado (cabe recordar que la mayoría de los medicamentos fueron formulados por la acción que producen ciertas plantas medicinales y hierbas naturalmente, para atacar afecciones y problemáticas de salud). Cuando se descubre el ingrediente activo (es aquel que posee toda actividad farmacológica) es usado medicamente y esto sigue vigente hasta hoy<sup>19</sup>. Por ende, la integración de la fitoterapia en la terapéutica tiene no sólo una base histórica, sino que ambas comparten también una base química<sup>18</sup>.

El retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica ha venido propiciado, en parte, por el retorno hacia lo natural que ha habido de forma general en la sociedad. También han jugado un importante papel los siguientes factores<sup>18</sup>:

- El descubrimiento de efectos adversos en fármacos de síntesis.
- El mejor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados.
- El desarrollo de métodos analíticos que facilitan el control de calidad.

La actividad de la planta se localiza en las semillas, las flores, los frutos, la parte aérea de la planta, o en lo que se denomina la sumidad. La mayoría de los principios activos que se obtienen de las plantas medicinales proceden del metabolismo secundario. La acción farmacológica de una determinada planta medicinal depende en la mayoría de los casos de varios principios activos y no sólo de uno aislado, existiendo sinergismo y acciones coadyuvantes entre ellos<sup>20</sup>.

### 2.2.1.1. Principios activos de las plantas medicinales

#### A. Fenoles y heterósidos fenólicos: compuestos fenólicos simples

Son los compuestos fitoquímicos más simples y consisten en un anillo fenólico sustituido. Algunos ejemplos los constituyen el catecol, el pirogalol y los ácidos: cinámico y cafeico. *Matricaria chamomilla* es productora de compuestos de estas características<sup>21</sup>.

Los lugares y el número de grupos hidroxilo (OH) en el anillo parece estar relacionado directamente con la toxicidad frente a los microorganismos<sup>21</sup>.

**B. Taninos**

Constituyen un grupo de sustancias fenólicas poliméricas y se pueden dividir en hidrolizables y condensables. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias<sup>21</sup>.

**C. Cumarinas**

Son compuestos derivados de la benzo- $\alpha$ -pirona. Tiene propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras. Parece que su mecanismo de acción antimicrobiano es mediante interacción con el DNA eucariota<sup>21</sup>.

**D. Flavonas y compuestos relacionados**

Las flavonas son estructuras fenolicas que contienen un grupo carbonilo. Constituyen la familia mas amplia de fenoles naturales. Su actividad frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana<sup>21</sup>.

**2.2.1.2. Métodos para la aplicación de las plantas****A. Infusión o tisana**

Es un líquido generado por el contacto entre el agua caliente y las hierbas, de modo que éstas liberan en el agua sus elementos constituyentes. Es necesario cubrir la tisana, ya que algunos de sus componentes son volátiles y desaparecen con el vapor<sup>22</sup>. Tienen una historia amplia puesto que su uso fue muy común y aceptado por nuestros antecesores debido a su fácil elaboración<sup>23</sup>.

**B. Extracto**

Un extracto es la separación de las sustancias biológicamente activas de una planta, donde siempre se obtiene por lo menos dos componentes: la solución extraída (el extracto) y los residuos (el bagazo). Esta sustancia muy concentrada se obtiene por diversos procedimientos<sup>2</sup>. El proceso de maceración consiste en poner en contacto la droga y el solvente, durante varios días. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente, y depende de factores que están unidos a la droga, como por ejemplo

su naturaleza, el tamaño de la partícula, su contenido de humedad y cantidad y factores que están relacionados con el solvente, por ejemplo, la selectividad y cantidad. El proceso clásico de maceración consiste en dejar la droga en contacto con el solvente durante varios días, con agitación ocasional<sup>24</sup>.

### 2.2.2. TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*)

*Aloysia triphylla* es una especie muy cultivada por sus propiedades curativas en México, Venezuela, Brasil, Bolivia, Perú, Uruguay y Argentina<sup>25</sup>.

Conocida popularmente, según el país o la región como tiquil tiquil, verbena de tres hojas, hierbaluisa, verbena olorosa, cidrón, cedrón, hierbacidrera, hierba princesa, hierba de las tres hojas, hierba de la primavera, reina Luisa, entre otros<sup>26-28</sup>.

Su nombre “Aloysia” es en honor a María Luisa de Parma, reina de España (1754-1819) y “triphylla” (tres hojas) por el número de hojas de cada verticilo<sup>26</sup>.



Tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*)

Fuente: propia de los investigadores

#### 2.2.2.1. Aspectos taxonómicos

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Verbenáceas

Género: *Aloysia*

Especie: *Aloysia triphylla*<sup>26</sup>

#### 2.2.2.2.Sinonimia

Es también conocida como<sup>25, 29</sup>:

- *Verbena triphylla* (L'Hér.)
- *Verbena citriodora* (Cav.)
- *Lippia triphylla* (Kunth)
- *Lippia citriodora* (L'Hér.) Kuntze
- *Zappania citriodora* (Lam.)
- *Verbena fragrans* (Salisb.)
- *Cordia microcephala* (Willd. ex Roem. & Schult.)
- *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton
- *Aloysia sleumeri* (Moldenke)
- *Aloysia triphylla* f. *serrulata* (Moldenke)

#### 2.2.2.3.Descripción botánica

*Aloysia triphylla* es una planta arbustiva, que puede alcanzar una altura de 1,5 m hasta 2,00 m. Sus tallos son largos, leñosos y angulosos, cuando son jóvenes, y cilíndricos cuando son adultos, presenta ramas secundarias en la parte superior<sup>27, 29</sup>.

Sus hojas se muestran agrupadas en verticilos trímeros, son lanceoladas, con el margen liso o muy finamente aserrado, de color verde claro por el haz, con el envés marcado por una nervadura mediana saliente de la cual se destaca una serie de nervaduras secundarias paralelas, las cuales dan la característica fragancia a limón. Sus flores son pequeñas, blancas por fuera y violáceas por dentro, y se ubican al extremo de los tallos en espigas agrupadas en panículas terminales laxas. El cáliz posee dos labios laterales; la corola es acampanada, simpétala, con los lóbulos imbricados. El gineceo está formado por dos carpelos unidos. El fruto es una drupa, que encierra dos granos que a veces no llegan a la madurez<sup>27, 29</sup>.

#### 2.2.2.4.Uso etnomedicinal y propiedades

En Sudamérica, la ingesta por vía oral de la infusión de las hojas y tallos, de *Aloysia triphylla* es utilizada como antiespasmódico, tranquilizante, calmante nervioso y

expectorante. Además, en Bolivia, también se emplea para tratar la hipertensión arterial; en Ecuador para aliviar la fiebre, dolor de cabeza y como diurético<sup>27, 31</sup>.

Se ha demostrado que el aceite esencial de *Aloysia triphylla* presenta importante actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella ozaenae*, *Enterococcus sp*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans*<sup>32</sup>.

#### 2.2.2.5. Compuestos químicos

*Aloysia triphylla* contiene básicamente flavonoides, sobre todo flavona hidroxiladas en C6<sup>25</sup>. Así mismo los estudios han identificado que las hojas son ricas en: geranial, neral<sup>19</sup>. Y en menor cantidad limoneno y el cariofileno (responsable de su acción eupéptica, aunque también se le atribuye cierta acción espasmolítica)<sup>28</sup>. El citral (neral + geranial) es el principal componente del aceite esencial de *Aloysia triphylla*<sup>30</sup>.

**Citral:** Es una mezcla de dos aldehídos monoterpénicos isoméricos, geranial y neral. Se caracteriza por un fuerte olor a limón. Además, es: antibacterial, antihistamínico, fungicida, expectorante y anticancerígeno<sup>26</sup>.

Mecanismo de acción: Se ha informado diversas actividades biológicas del citral, tales como antiinflamatoria, inducido por carragenina, supresión de la COX-2 y activación de PPAR $\gamma$ , inhibición de la producción de óxido nítrico, actividad antinociceptiva, vasodilatadora, espasmolítica, sedante y relajante motora. Además, se ha evidenciado actividad antimicrobiana como inhibición del crecimiento de hifas de *Trichophyton mentagrophytes* (se observó que la membrana celular y las organelas fueron dañadas irreversiblemente por el citral)<sup>32</sup>.

**Limoneno:** Es un monoterpeneo, este compuesto tiene propiedades antibacterianas, anticancerígenas, antiespasmódicas y expectorantes<sup>26</sup>.

#### 2.2.3. MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*)

La manzanilla, hierba aromática originaria de Europa, es conocida y utilizada desde la antigüedad, sobre todo por sus propiedades curativas. Se caracteriza principalmente por

ser desinflamante, relajante y ligeramente sedante. El nombre “chamomilla” proviene del griego “chamaemelum” que significa “manzanas en el suelo” ya que la planta es pequeña, rastrera y desprende un aroma a manzana, así mismo la palabra “matricaria” proviene del latín “matrix” que significa matriz y se la llamaba así porque era utilizada para tratar a las dismenorreas<sup>33</sup>.



Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)

Fuente: Propia de los investigadores

### 2.2.3.1. Aspectos taxonómicos

Phylum: Euphyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Astéraceae (Compositae)

Género: *Matricaria*

Especie: *Matricaria chamomilla*<sup>15,13</sup>

### 2.2.3.2. Descripción botánica

La manzanilla de Castilla, manzanilla alemana, dulce o cimarrona (*Matricaria recutita* o *Matricaria chamomilla*) es una planta herbácea anual de la familia de las asteráceas<sup>15</sup>. Posee un tallo cilíndrico, erguido, ramoso, de hasta 50 o 60 cm de altura. Las hojas son sésiles, profundamente divididas en lacinias, muy finas y filiformes. En posición terminal, presenta una inflorescencia en forma de capítulo paniculado. Las flores radiales son entre 12 a 20, con la lígula blanca que cuelgan a medida de acuerdo a su maduración y flósculos amarillos pentalobulados en un receptáculo cónico<sup>2,34</sup>.



Asimismo, las flores son un poco amargas y fragantes por lo que desprenden un olor característico a manzana, de ahí el nombre de manzanilla<sup>13</sup>.

Existen tres especies diferentes, todas ellas pertenecientes a la familia de las asteráceas y con similares virtudes:

- *Matricaria chamomilla* o *Matricaria recutita* L. llamada también manzanilla alemana, manzanilla dulce o cimarrona o manzanilla común.
- *Anthemis nobilis* o *Matricaria nobilis* o *Chamaemelum nobile* también llamada manzanilla romana, manzanilla amarga, manzanilla inglesa.
- *Anthemisa Nensi* llamada también manzanilla o camomila de campo o bastarda<sup>15</sup>.

### 2.2.3.3. Origen y extensión

Es una planta herbácea originaria del sudeste de Europa y Asia Occidental, y de allí se ha extendido a todos los continentes, principalmente a América. Hoy en día, se cultiva en Europa, América del Sur y en menor medida. Es muy resistente a cambios climáticos por su capacidad de adaptación geográfica<sup>2, 15, 33</sup>.

### 2.2.3.4. Uso etnomedicinal y propiedades

Su uso medicinal se remonta a la antigüedad. En Grecia, Egipto y Roma es conocida y aplicada para tratar una variedad de dolencias, como fiebre, dolores estomacales y otros<sup>33</sup>. Es una de las plantas medicinales más ampliamente utilizadas y está incluida en las farmacopeas de 26 países de todo el mundo<sup>15</sup>. Por sus propiedades, las cabezas de las flores secas de la planta, se utilizan ampliamente en la medicina tradicional<sup>15, 9</sup>.

Morón Rodríguez Francisco y col. indican que los capítulos florales son considerados como la parte más activa de la planta, pues es allí donde se encuentran (el aceite esencial) la mayor cantidad de compuestos químicos<sup>2, 13</sup>.

Las propiedades antibacterianas de la *Matricaria chamomilla*, sobre el *Streptococcus mutans*, han sido investigadas mediante extractos y aceites esenciales y así mismo con aceite esencial sobre *Prevotella intermedia* demostrándose su acción en el control de la placa dental<sup>15, 9</sup>. Además *Matricaria chamomilla*, también es un factor protector para la conservación del flujo salival y para aumentar la capacidad buffer de la saliva<sup>15</sup>.

### 2.2.3.5. Compuestos químicos

Según estudios realizados la manzanilla contiene:<sup>13, 33, 34.</sup>

- Hidratos de carbono: fructuosa, galactosa (planta), glucosa (flor)
- Mucílago
- Ácidos grasos: linoleico, palmítico, oleico
- Vitamina C
- Betacrotenos
- Colina
- Ácidos orgánicos: ácido salicílico, ácido cafeico, ácido péptico (planta)
- Alcoholes: farnesol, geraniol, borneol (planta)
- Ácidos: alfa-bisabolol (flor), ascórbico, salicílico, cafeico, cáprico, gentísico, linoleico, palmítico, oleico, péptico (planta)
- Pigmentos: luteolina, apigenina, cuarcetin (pigmentos amarillos)
- Aceites esenciales: azuleno, alfa-bisabolol, camazulelo, farneseno, cadineno, furfural, matricarina, matricina, sesquiterpenos
- Ácidos antemico (principio amargo que puede ser emético), farnesol, geraniol, borneol (planta), luteolina, apigenina, cuarcetin (pigmentos amarillos), cumarinas (umbeliferona)
- Flavonoides: agenina, hiperosido, apigetrina, patuletina, jaceidina, axilarina, apiína, quercetina, rutina.

El azuleno es un compuesto orgánico volátil, tiene un olor fuerte, es antiinflamatorio, antiséptico, espasmolítico. El camazuleno inhibe la 5-lipooxigenasa y la síntesis de leucotrienos (LTB<sub>4</sub>), así mismo el camazuleno es antialérgica por su efecto antihistamínico<sup>35</sup>. Lactonas sesquiterpénicas, es un tipo de compuesto químico que se encuentra en las plantas de la familia Asteraceae y presenta actividad antimicrobiana, cito tóxica, antiinflamatoria, antibacteriana, anticancerígena, antiviral, anti fúngica, dentro de este grupo está la matricina, matricarina y desacetilmatricarina<sup>2</sup>.

Mecanismo de acción de la manzanilla frente a procesos infecciosos: El principal mecanismo de acción de la manzanilla durante procesos infecciosos es la ruptura de la membrana celular la cual puede ocurrir por tres mecanismos: aumento de la permeabilidad, desequilibrio de la estabilidad estructural y por consiguiente desestabilización de la bicapa lipídica produciendo la lisis bacteriana<sup>9</sup>.

#### 2.2.4. PREVOTELLA INTERMEDIA

Es un bacilo, gramnegativo, anaerobio estricto, capaz de producir pigmento negrozco, inmóvil, no formadora de esporas. Este bacilo que mide 0.4 x 0.6-1  $\mu\text{m}$ , al microscopio se ven como cocobacilos o bastones alargados<sup>9, 36</sup>.

El hábitat primario es el surco gingival y la bolsa periodontal de la cavidad bucal; así mismo, esta ha sido aislada en jóvenes con periodontitis crónica<sup>37</sup>. Se sabe que es el agente etiológico principal de las enfermedades periodontales, así mismo es asociado con diversas enfermedades sistémicas<sup>38</sup>.

##### 2.2.4.1. ASPECTOS TAXONÓMICOS

###### A. Phylum bacteroidetes

Es un *phylum* de bacterias con amplia distribución en el medio ambiente. En cavidad bucal se los relaciona con el biofilm de placa subgingival en las distintas enfermedades periodontales<sup>37</sup>.

Son bacilos anaerobios estrictos, gramnegativos no formadores de esporas, rectos, curvados o helicoidales y pueden ser o no ser móviles. Metabolizan carbohidratos, peptonas o intermedios metabólicos y producen productos ácidos orgánicos finales<sup>37</sup>.

###### B. Genero prevotella

La cual se subdivide en:

###### - *Prevotella Pigmentada*

Productores de colonias marrón oscuro a negro. A este grupo pertenecen: *P. intermedia*, *P. negriscens*, *P. corporis*, *P. melaninogenica*; de los cuales *P. intermedia*, *P. corporis*, *P. negriscens* son resistentes a la vancomicina y susceptibles a la colicistina. Así mismo *Prevotella intermedia* y *P. negriscens* son indol positivo<sup>9</sup>.

###### - *Prevotella sp. No Pigmentadas*

En este grupo los más frecuentes son: *P. buccae*, *P. oralis*, menos comunes en especímenes clínicos, se encuentran como parte normal de la flora de la cavidad oral, flora gastrointestinal y tracto genital femenino<sup>9</sup>.

Con respecto a las enfermedades periodontales, las más implicadas son *P. intermedia* y *P. nigrescens* cuyas colonias, al contrario de *P. gingivalis*, emiten fluorescencia; la primera especie está presente en el surco gingival en una de cada dos personas con buena salud periodontal y su prevalencia pasa a tres de cada cuatro en sujetos afectados de gingivitis o periodontitis. Fuera de la cavidad oral estas especies, con más frecuencia *P. intermedia* y sobre todo *P. melaninogenica*, se aíslan en enfermedades infecciosas sinusales y pleuropulmonares o mordeduras humanas; esto indica que la boca es su reservorio habitual<sup>6</sup>.

#### 2.2.4.2. Características de cultivo

Las colonias de *Prevotella intermedia* crecen en agar sangre anaerobio, a 35 - 36 °C, a un pH de 7. Para su desarrollo y proliferación requiere de vitamina k o hemina, *Prevotella* utiliza carbohidratos como fuente única de carbono y energía. Las colonias se observan circulares de bordes enteros, convexas, no hemolíticas, con un centro oscuro y bordes de color gris a carmelita claro; con la incubación prolongada de 24 a 48 horas se intensifica la producción de pigmentos<sup>9, 36</sup>.

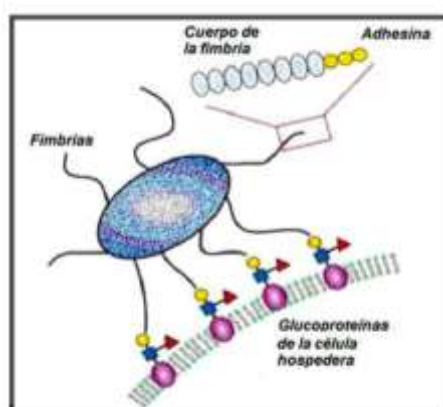
#### 2.2.4.3. Patogenia

*Prevotella intermedia* coloniza el surco gingival y es responsable de gingivitis en embarazadas, púberes, mujeres que toman anticonceptivos orales y en aquellas que toman compensación hormonal en la pre menopausia y menopausia. La presencia de hormonas sexuales se relaciona con el aumento de *Prevotella intermedia*; se considera que el estradiol y la progesterona actuarían como nutrientes de estos microorganismos y serían sustitutos de la vitamina k y naftoquinona, nutrientes esenciales para el desarrollo de *Prevotella intermedia*<sup>9, 37</sup>.

Así mismo se asocia con la progresión de la gingivitis ulcero necrotizante aguda y comúnmente con periodontitis crónica<sup>9, 12</sup>.

Su patogenicidad se explica por sus factores de virulencia como: las proteasas, las fimbrias, colagenasa y cinasa, las cuales dificultan su reconocimiento por la destrucción de los elementos que intervienen en la inflamación y la destrucción tisular<sup>9, 36</sup>.

- A. Fimbrias:** Son elementos filamentosos con aspecto de cabellos. Estas subunidades de proteínas, están ancladas en la membrana externa de la bacteria, pueden ser rígidas o flexibles, su función principal es el soporte de las adhesinas, encargadas de reconocer a su receptor en la célula hospedera; teniendo una gran capacidad de adherencia, lo cual es fundamental para su capacidad de colonización<sup>9, 39</sup>.
- B. Enzimas proteolíticas:** Las proteasas de *Prevotella intermedia* pueden degradar varias proteínas del tejido, proteínas del líquido hístico y proteínas inmunitarias.
- **Proteasa contra IgA secretora:** Se encarga de degradar inmuglobulinas, este rompimiento separa la parte de las IgA que se une a la bacteria de la parte que interactúa con la mucina, su importancia es que las bacterias pueden colonizar las superficies mucosas con mayor facilidad<sup>9, 40, 41</sup>.
- C. Colagenasa y la hialuronidasa:** Estas enzimas que degradan el colágeno y el ácido hialurónico, permiten que el microorganismo patógeno se disperse a través de los tejidos<sup>9</sup>.
- D. Cinasa:** Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo fosfato de la molécula ATP a otra molécula receptora<sup>9</sup>.
- E. Nucleasas:** Ayuda en la infiltración bacteriana de los tejidos periodontales<sup>42</sup>.
- F. Enzimas hidrolíticas:** Produce una fuerte actividad de fosfatasa ácida y alcalina<sup>40</sup>.



Patogenicidad de bacterias

Fuente: Santamaria J. Efecto inhibitorio del aceite esencial de manzanilla vs ácido acético sobre la cepa de *Prevotella Intermedia*. Estudio *in vitro*.

## 2.2.5. CLASIFICACIÓN DE LAS ENFERMEDADES PERIODONTALES

La clasificación aplicada en la actualidad es la propuesta y aceptada de 1999<sup>37</sup>. Se presentó y analizó en el International Workshop for the Clasiffication of Periodontal Diseases de 1999, organizado por la American Academy of Periodontology (AAP)<sup>1</sup>.

### **I. enfermedad gingival**

- A. enfermedades gingivales inducidas por el biofilm
- B. enfermedades gingivales no inducidas por el biofilm

### **II. Periodontitis crónica**

- Leve (perdida de inserción clínica: 1-2 mm)
- Moderada (3-4mm de inserción clínica)
- Severa (mayor o igual a 5mm de pérdida de inserción clínica)
- A. Localizada (menos de 30% de los sitios afectados)
- B. Generalizada (más del 30% de los sitios afectados)

### **III. Periodontitis agresiva**

- Leve (perdida de inserción clínica: 1-2 mm)
- Moderada (3-4mm de inserción clínica)
- Severa (mayor o igual a 5mm de pérdida de inserción clínica)
- A. Localizada (menos de 30% de los sitios afectados)
- B. Generalizada (más del 30% de los sitios afectados)

### **IV. Periodontitis como manifestación de una enfermedad sistémica**

- A. Asociada con enfermedad hematológicas
- B. Asociada con desordenes genéticos
- C. Otras no especificadas

### **V. Enfermedades periodontales necrotizantes**

- A. Gingivitis ulceronecrotizante
- B. Periodontitis ulceroerotizante

### **VI. Abscesos del periodonto**

- A. Absceso gingival
- B. Absceso periodontal
- C. Absceso coronal

### **VII. Periodontitis asociadas con lesiones endodónticas**

### **VIII Condiciones y deformidades adquiridas o del desarrollo**

- A. Factores relacionados al diente que modifican o predisponen a gingivitis o periodontitis asociada a biofilm.
- B. Deformidades y condiciones mucogingivales alrededor del diente
- C. Deformidades y condiciones mucogingivales en rebordes alveolares
- D. Trauma oclusal

Clasificación de enfermedades y lesiones periodontales.

Fuente: Anonymous Position paper: Epidemiology of periodontal diseases. American Academy of Periodontology. J Periodontol 1998; 67:1033.

### 2.2.5.1. Gingivitis

La gingivitis se manifiesta por cambios inflamatorios registrados en los tejidos gingivales. Las bacterias identificadas en la gingivitis inducida por placa dental consisten en proporciones casi iguales de especies grampositivas (56%) y gramnegativas (44%) así como microorganismos facultativos (59%) y anaerobios (41%). Las especies grampositivas predominantes incluyen *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. intermedius*, *S. oralis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii* y *Peptostreptococcus micros*. Los gérmenes gramnegativos son de modo predominante *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *V. parvula* y especies de *Haemophilus*, *Capnocytophaga* y especies de *Campylobacter*<sup>1</sup>.

La gingivitis del embarazo es una inflamación aguda de los tejidos gingivales relacionada con la gravidez. Esta situación se acompaña de ascensos de las hormonas esteroides en el líquido crevicular e incrementos notables de los valores de *P. intermedia*, que emplean los esteroides como factores de crecimiento<sup>1</sup>.

Los estudios sobre gingivitis apoyan a la conclusión de que la enfermedad guarda relación con determinadas alteraciones de la composición microbiana de la placa dental y no es simplemente el resultado de una acumulación de placa<sup>1</sup>.

### 2.2.1.1. Periodontitis

La periodontitis se define como una enfermedad inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes causada por microorganismos o grupos de microorganismos específicos que producen la destrucción progresiva del ligamento periodontal y el hueso alveolar con formación de bolsa, recesión o ambas. La característica clínica que distingue la periodontitis de la gingivitis es la presencia de pérdida ósea detectable<sup>1</sup>.

Especies anaerobias como *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Tannerella forsythia* y espiroquetas son comunes en la placa subgingival de los pacientes con periodontitis<sup>43</sup>.

Periodontitis crónica: Cultivos de microorganismos de placa tomada en sitios con periodontitis crónica revelan porcentajes altos de especies bacterianas anaerobias (90%) gramnegativas (75%). En la periodontitis crónica los gérmenes cultivados más a menudo en concentraciones alta incluyen *P. gingivalis*, *B. forsythus*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *Elkenella corrodens*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetencomitans*, *P. micros*, y especies de *Treponema* y *Eubacterium*. Cuando se comparan sitios periodontales

activos (esto es con pérdida reciente de inserción) con otros inactivos (es decir, sin pérdida reciente de inserción), *C. rectus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *B. fhorsytus* aparece con valores altos en puntos activos. Así mismo, concentraciones identificables de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. fhorsytus*, *C. rectus* y *A. actinomycetencomitans* se relacionan con la progresión de la enfermedad<sup>1</sup>.

Además, estudios microbiológicos indican que en las lesiones de gingivitis ulcerativa necrosante hay gran cantidad de *P. intermedia* y espiroquetas<sup>1</sup>.

Asimismo, las investigaciones revelan que en los abscesos periodontales se hallan bacterias reconocida como patógenos periodontales en cantidades considerables. Estos microorganismos son *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. micros* y *B. forsythus*<sup>1</sup>.

#### **2.2.1.2. Etiología de las enfermedades periodontales**

Las enfermedades gingivales y periodontales presentan una alta incidencia a nivel mundial, por lo que se considera un problema de salud pública, se estima que más del 70% de la población adulta ha padecido gingivitis, periodontitis o ambas. Además, es considerada la segunda causa asociada a la pérdida de piezas dentarias<sup>3, 4</sup>.

La periodontitis severa, afecta a un 10% a 15% de los adultos en la mayoría de poblaciones, siendo la periodontitis moderada mayormente común, afectando a un 40 a 60 % de los adultos<sup>44</sup>.

#### **2.2.1.3. Naturaleza infecciosa de las enfermedades periodontales**

Las enfermedades periodontales: gingivitis y periodontitis, están asociadas a la biopelícula dental. Lo siguientes hechos ponen de relieve el papel de las bacterias en ellas<sup>37</sup>:

- En estudios longitudinales se han demostrado la correlación existente entre la película dental y la gingivitis. Por ende, la eliminación de la biopelícula trae consigo la resolución del cuadro inflamatorio.
- En los pacientes con periodontitis la disminución de los microorganismos específicos por medio de tratamientos anti infecciosos conduce a una sensible mejoría clínica.



- En estudios realizados *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado el poder patogénico de determinados microorganismos mediante: pruebas de laboratorio, inoculación de en animales de experimentación.

**2.2.1.4. Epidemiología de las enfermedades periodontales**

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad periodontal son producto de una compleja interacción entre el agente causal, en este caso bacterias específicas de la placa dental, y los tejidos del huésped. La inflamación es la característica patológica central de la enfermedad periodontal y la placa bacteriana el factor causal que induce el mecanismo inflamatorio del huésped<sup>1</sup>.

**2.2.2. PLACA DENTAL**

Es una comunidad organizada de microorganismos adheridos a una superficie compuesta por una matriz polimérica, con un glucocalix, la cual retarda las funciones antimicrobianas del hospedero, esta forma de convivencia microbiana facilita y potencia el crecimiento de distintos microorganismos que se organizan compartiendo funciones y coexisten de manera ordenada, ayudando a la reproducción rápida de bacterias y adaptándose al medio ambiente<sup>40</sup>.

Socransky y colaboradores identificaron distintos grupos bacterianos, que guardan relación con la enfermedad periodontal, dentro del biofilm, los cuales se identificaron con colores y ordenó de la siguiente manera<sup>39</sup>:

Complejo azul	Complejo púrpura	Complejo verde	Complejo amarillo	Complejo naranja	Complejo rojo
<i>Actinomyces species</i>	<i>V. Párvula</i>  <i>A. Odontolyticus</i>	<i>Aggregatibacter Actinomycetemc omitans</i>  <i>Capnocytophaga gingivalis</i>  <i>C. Sputigena</i> <i>C. Ochracea</i> <i>Eubacterium Corrodens</i>	<i>Streptococcus Oralis</i>  <i>S. Mitis</i> <i>S. Sanguis</i> <i>Streptococcus G.</i>	<i>Campylobacter rectus</i>  <i>C. gracilis</i>  <i>P. Intermedia</i>  <i>P. Micros</i>  <i>P. Nigrescens</i>	<i>Porphyromonas Gingivalis</i>  <i>Tannerella</i>  <i>Forsythia</i>  <i>Treponema Denticola</i>

Grupos bacterianos en el biofilm dental

Fuente: Mendoza G. La Periodontología: Científica y Clínica

### 2.2.2.1. Clasificación

La placa dental puede dividirse en placa supragingival y subgingival. La placa supragingival se encuentra en el margen gingival o sobre este y puede estar en contacto directo con el mismo. La placa subgingival se encuentra por debajo del margen gingival, entre el diente y el tejido del surco gingival. Aproximadamente un 70- 80 % de la placa es microbiana y el resto matriz extracelular. La matriz intercelular representa un 20% de la masa de la placa y consta de materiales orgánicos e inorgánicos derivados de saliva, líquido cervical gingival y productos bacterianos<sup>40</sup>.

### 2.2.2.2. Formación de la placa dental

Las principales fases de la placa supragingival son:

- A. Formación de película:** Segundos después de limpiarse los dientes, se deposita una fina capa de proteínas salivales, principalmente glucoproteínas, en la superficie del diente. Esta capa llamada película adquirida, es fina (0.5  $\mu\text{m}$ ), lisa, incolora y translúcida<sup>40</sup>.
- B. Colonización inicial:** Minutos después de haberse formado la película adquirida, aparecen las primeras bacterias. La fijación bacteriana a los dientes es mediada por receptores en la delgada cubierta salival, de la película adquirida. Las bacterias se depositan directamente sobre el esmalte, aunque normalmente se unen a la película y los agregados bacterianos pueden recubrirse de glucoproteínas salivales. Los colonizadores iniciales o tempranos de la placa son especies comensales como estreptococos (*S. sanguinis*, *S. gordonii* y *S. oralis*) y actinomicetos<sup>40, 43</sup>.
- C. Colonización secundaria y maduración de la placa:** La salud bucal comienza a deteriorarse conforme la placa es colonizada por otras especies. Los colonizadores secundarios llegan a la placa después de los colonizadores primarios y aprovechan las ventajas de los cambios en el ambiente que el crecimiento y el metabolismo de los colonizadores han producido. Después de 4 a 7 días de formación no controlada de placa, se desarrollará gingivitis. La placa

relacionada con gingivitis es un tanto más gruesa que la formada en sitios sanos normales. Durante este proceso, las condiciones ambientales cambiarán gradualmente provocando más cambios selectivos, que incluyen la abertura del surco gingival como lugar de crecimiento bacteriano y el inicio del flujo de líquido crevicular gingival. A su vez esto aporta más nutrientes provenientes del suero y permite que otras bacterias con diferentes necesidades metabólicas entren en la placa, entre las que se incluyen bacilos gramnegativos como especies de *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* y bacteroides. A los 7 – 11 días aumenta la complejidad de la placa por la aparición de bacterias móviles, como spiroquetas y *Vibrios*. Se producen más interacciones de bacterias de diferentes especies. Estos colonizadores secundarios también forman los principales grupos de bacterias a partir de los que posteriormente se forma la placa subgingival. Son comunes los depósitos mineralizados dentro de estas placas (que con el tiempo se convierten en cálculos). Las mayores proporciones de bacterias filamentosas y gramnegativas (p. ej., *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Selenomonas sputigena*, *Campylobacter sputorum* y *Haemophilus parainfluenzae*) residen en estas placas<sup>40, 43</sup>.



Representación artística de gingivitis y caries interproximal incipiente. La placa se ha hecho extensa. Los tejidos gingivales están infiltrados de células inflamatorias.

Fuente: Lamont R, Hajishengallis G, Jenkison H. Microbiología e inmunología oral.



Representación artística de periodontitis grave y caries dentaria. La placa se ha mineralizado hasta convertirse en cálculo. La acción de la placa y de la respuesta inflamatoria del huésped ha dado por resultado la destrucción ósea alveolar grave.

Fuente: Lamont R, Hajishengallis G, Jenkison H. Microbiología e inmunología oral.

### 2.2.3. CONTROL QUÍMICO DE LA PLACA DENTAL

La eliminación mecánica de la placa es todavía la técnica básica empleada para evitar las enfermedades dentarias y conservar la salud bucal. Sin embargo, una mejor comprensión de la naturaleza infectante de los procedimientos dentales revitaliza de modo notable el interés por los métodos químicos de control de placa<sup>1</sup>.

#### 2.2.3.1. Clorhexidina: gold estándar

Es una bisbiguanida catiónica, ampliamente activa contra bacterias grampositivas, gramnegativas, anaerobias facultativas y aerobias; en menor medida, contra hongos y levaduras. La clorhexidina fue desarrollada en la década de los 40 por Imperial Chemical Industries en Inglaterra por científicos que realizaban un estudio sobre la malaria. En ese momento los investigadores fueron capaces de desarrollar un grupo de compuestos denominados polibiguanidas, que demostraron tener un amplio espectro antibacteriano y salió al mercado en 1954 como antiséptico para heridas de la piel. Posteriormente comenzó a usarse en medicina y cirugía tanto para el paciente como para el cirujano<sup>9, 45</sup>.

En odontología se utilizó inicialmente para desinfección de la boca y endodoncia. El estudio definitivo que introdujo la clorhexidina en el mundo de la periodoncia fue el realizado por Løe y Schiott en 1970, donde se demostró que un enjuague de 60 segundos dos veces al día con una solución de gluconato de clorhexidina al 0,12% en

ausencia de cepillado normal, inhibía la formación de placa y consecuentemente el desarrollo de gingivitis. Debido a sus propiedades catiónicas se une a la hidroxapatita del esmalte, a la película adquirida, y a las proteínas salivales. La clorhexidina absorbida se libera gradualmente, esto pueda ocurrir durante las 12 a 24 hs. Después de su absorción con lo que se evita la colonización bacteriana en ese tiempo (sustantividad)<sup>45</sup>. Actúa contra la pared celular de los microorganismos causando alteraciones en la movilidad electroforética de todo el microorganismo, alterando la integridad de la pared celular y facilitando la liberación de los componentes intracelulares. A bajas concentraciones es bacteriostático al 0.2% y altas concentraciones es bactericida al 2%<sup>45, 46</sup>. Es aplicada en ortodoncia, endodoncia, cirugía oral, implantología, prótesis y especialmente en periodoncia ya que la gingivitis y la enfermedad periodontal, se presenta en un gran porcentaje en la población adulta<sup>9</sup>.

No se recomienda para el uso a largo plazo debido a sus efectos adversos como la tinción, aumentar la deposición de cálculo, alteraciones del gusto, sensación de ardor, dermatitis de contacto, piel y mucosas irritadas, anafilaxia, urticaria, conjuntivitis<sup>9, 46</sup>.

#### **2.2.3.2.SUSTANCIAS NATURALES EN EL CONTROL DE PLACA BACTERIANA**

En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintas infusiones, extractos y aceites esenciales de plantas con el fin de ayudar en el control de la placa bacteriana y por consiguiente en la disminución de la prevalencia e incidencia de caries dental y enfermedad periodontal. Por lo tanto, el investigar y conocer el tipo de principio activo presente en las plantas resulta importante para poder encontrar la relación causa-efecto que ellos producen en la prevención o cura de enfermedades<sup>8</sup>.

Los fármacos a base de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja respecto a los tratamientos químicos. En las plantas, los principios activos están biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias que van a potenciarse biológicamente entre sí, no se acumulan en el organismo y sus efectos indeseables están limitados y son accesibles a precios asequibles<sup>8</sup>.

### 2.3. HIPÓTESIS

#### 2.3.1. HIPÓTESIS ALTERNA

- El extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* tendrá un mayor o igual efecto inhibitorio *in vitro* que el extracto etanólico de *Aloysia triphylla*.
- La infusión de *Matricaria chamomilla* tendrá un mayor o igual efecto inhibitorio *in vitro* que la infusión de *Aloysia triphylla*.

#### 2.3.2. HIPÓTESIS NULA

- El extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* tendrá un menor efecto inhibitorio *in vitro* que el extracto etanólico de *Aloysia triphylla*.
- La infusión de *Matricaria chamomilla* tendrá un menor efecto inhibitorio *in vitro* que la infusión de *Aloysia triphylla*.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

##### 3.1.1. ÁMBITO GENERAL

El presente trabajo de investigación se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano de la ciudad de Puno, ciudad que se encuentra en la Provincia de Puno y Departamento de Puno, está ubicado en la parte sureste del territorio peruano entre los 13° 00' y 17° 08' latitud Sur y en los 71° 08' y 68° 50' longitud Oeste del meridiano de Greenwich, en un territorio de aproximadamente 72,000 km<sup>2</sup>, su extensión abarca desde la isla Esteves al noroeste, el centro poblado de Alto Puno al norte y se extiende hasta el centro poblado de Jayllihuaya al sur; el espacio físico está comprendido desde la orilla oeste del lago Titicaca, en la bahía interior de Puno (antes Paucarcolla), sobre una superficie ligeramente ondulada, rodeada por cerros, oscilando entre los 3.810 a 4.050 msnm a orillas del Lago Titicaca, contando con una población estimada de 120,790 habitantes .

##### 3.1.2. ÁMBITO ESPECÍFICO

La presente investigación se realizó específicamente en el laboratorio de Zoología aplicada, de la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional del Altiplano.

#### 3.2. TIPO DE ESTUDIO

##### A. Nivel de investigación

El presente estudio pertenece al nivel de investigación explicativo.

##### B. Tipo de investigación

- Según la intervención del investigador: Experimental
- Según la planificación de la toma de datos: Prospectivo
- Según el número de ocasiones en que se mide la variable: Longitudinal
- Según el número de variables: Analítico

### 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

- A. Población:** Cepas de *Prevotella intermedia* obtenidas del surco gingival de un paciente con diagnóstico de periodontitis crónica, que acudió a una clínica odontológica particular.
- B. Muestra:** Cepas de *Prevotella intermedia* inoculadas en 32 placas Petri en Agar sangre, con 6 repeticiones para cada tratamiento y un control positivo o negativo por cada placa, haciendo un total de 224 muestreos.

#### 3.3.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MUESTRA

**A. Criterios de inclusión**

Placas con siembra adecuada de *Prevotella intermedia*

**B. Criterios de exclusión**

Placas contaminadas por otros microorganismos.



### 3.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

	VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADOR	SUBINDICADOR	ESCALA
INDEPENDIENTE	<i>Aloysia triphylla</i>	Planta arbustiva originaria de Sudamérica, conocida y utilizada por sus propiedades curativas (antiespasmódico, tranquilizante y antibacteriano)	Extracto etanólico	25%, 50%, 75% y 100%	μL
			Infusión	25%, 50%, 75% y 100%	μL
	<i>Matricaria chamomilla</i>	Planta herbácea originaria del sudeste de Europa y Asia occidental, conocida y utilizada por sus propiedades curativas (desinflamante, sedante y antibacteriano).	Extracto etanólico	25%, 50%, 75% y 100%	μL
			Infusión	25%, 50%, 75% y 100%	μL
DEPENDIENTE	<i>Prevotella intermedia</i>	Bacterioide con forma de bacilo, gramnegativo, anaerobio estricto, cuyo habita primario es el surco gingival y bolsa periodontal. Asociada a distintas enfermedades periodontales,	Halo de inhibición	Halo de inhibición	mm
INTERVINIENTE	Tiempo	Tiempo transcurrido desde la aplicación del tratamiento.	Horas	24 y 48	horas

### 3.5. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

A. **Técnica:** Observación directa

B. **Instrumentos**

- Documental: Fichas de recolección de datos
- Mecánico: Vernier digital y/o regla milimetrada

### 3.6.MATERIALES

#### A. Equipos de laboratorio

- Autoclave (horno a presión de calor húmedo)
- Estufa esterilizada de 5°C a 220°C
- Microscopio Óptico Compuesto
- Incubadora bacteriana.
- Jarra anaeróbica
- Contador de colonias.
- Cocina eléctrica
- Mechero Bunsen

#### B. Reactivos

- Agar Mueller Hinton
- Cristal violeta, lugol, alcohol cetona y safranina
- Solución para medio de transporte
- Agua destilada y suero fisiológico
- Solución peptonada

#### C. Materiales de vidrio de laboratorio

- Placas Petri
- Matraz Erlenmeyer de 250ml, 300ml y 500ml
- Tubos de ensayo
- Láminas porta y cubre objetos

#### D. Materiales de laboratorio

- Regla metálica milimetrada para medir espacios
- Papel filtro
- Hisopos estériles
- Algodón
- Jeringas desechables de 5ml, 10ml y tuberculina
- Papel craf y papel aluminio

**E. Elementos de bioseguridad**

## Barreras Primarias (EPP)

- Guantes quirúrgicos estériles
- Anteojos transparentes
- Mandil color blanco
- Gorra color blanco
- Mascarilla desechable

## Materiales Para Manejo De Residuos

- Detergente, desinfectantes y jabón carbólico.
- Escobilla para lavado de manos

**F. Infraestructura**

- Laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.
- Laboratorio de suelos de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

**G. Elementos auxiliares de registro**

- Cámara fotográfica digital 7,5 mega píxeles y computadora
- Papel, lápiz y lapiceros

**3.7.OBTENCIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*) Y MANZANILLA (*Matricaria chamonilla*)**

- Se obtuvo tiquil (*Aloysia triphylla*) en el mercado Avelino Cáceres - Arequipa.
- Se obtuvo la manzanilla (*Matricaria chamonilla*) en el mercado Unión y dignidad Puno. Ambas plantas fueron almacenado en papel craf.

**3.8.OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*) Y MANZANILLA (*Matricaria chamonilla*)**

- El extracto etanólico se realizó en el laboratorio de Ciencias Agrarias.

- Se procedió a pesar 2 kg las hojas de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) en una balanza, las hojas seleccionadas fueron lavadas con agua corriente y luego con agua destilada, se secó en una estufa a una temperatura 45 °C y luego se molieron hasta obtener un polvo fino.
- Se pesó aproximadamente 40 gramos de este polvo fino de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y se maceró con una solución hidroalcohólica (70% etanol + 30% agua) en frasco ámbar por 6 días, con agitación por 5 minutos diariamente.
- Luego se filtró y el producto obtenido, se evaporó todo el solvente por per vaporación de aire.

### 3.9. OBTECIÓN DE LAS INFUSIONES DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*) Y MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*)

Las infusiones se prepararon de forma similar al uso cotidiano (infusiones acuosas). Por lo que se pesaron 25, 50, 75 y 100 gramos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) respectivamente y se llevaron a 100ml de agua destilada, se dejó en ebullición durante cinco minutos en un matraz cubierto con papel aluminio, para evitar en lo posible una pérdida acuosa por evaporación. Cada infusión se almacenó en un frasco previamente esterilizado, en autoclave, posteriormente se rotularon para su identificación.

### 3.10. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS Y PRODUCTOS DE EXPERIMENTACIÓN

#### A. Grupos experimentales:

- Grupo experimental 1 (GE<sub>1</sub>): Extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25%, 50% ,75% y 100%.
- Grupo experimental 2 (GE<sub>2</sub>): Extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50% ,75% y 100%.
- Grupo experimental 3 (GE<sub>3</sub>): Infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25%, 50% ,75% y 100%.
- Grupo experimental 4 (GE<sub>4</sub>): Infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50% ,75% y 100%.

**B. Grupos controles:**

- Grupo control positivo (GC+): Clorhexidina al 0.12%.
- Grupo control negativo (GC-): agua destilada.

**3.11. OBTENCIÓN DE LA BACTERIA INDICADORA**

La bacteria que se ha utilizado para este estudio es la *Prevotella intermedia*, aislados del surco gingival de pacientes con enfermedad periodontal.

**3.11.1. Recolección de la muestra de experimentación para *Prevotella intermedia***

Para la toma de la muestra se hizo el aislamiento de la cepa de un paciente con diagnóstico de periodontitis crónica, que acudió a una clínica odontológica particular en la ciudad de Puno.

**Procedimiento:**

Se eliminó de la biopelícula supragingival con curetas, luego se frotó la superficie dentaria con gasa estéril. Se aisló el sector con rollos de algodón estéril y se tomó la muestra de la biopelícula subgingival con dos a tres puntas de conos de papel estéril (número 40) el cual fue insertado durante 15 a 30 segundos en la bolsa periodontal. Posteriormente se colocó en el tubo de ensayo con caldo peptonado que sirve como medio de transporte. Las cepas fueron homogenizadas en cuatro tubos de ensayo, los cuales contenían caldo nutritivo, obteniéndose una dilución de 3 ml por cada tubo, estos se llevaron a la incubadora por 24 horas a 37°C. Transcurrido este tiempo se realizó la siembra en, agar sangre.

**3.11.2. Preparación del medio de cultivo**

Se preparó el medio selectivo Mueller Hinton + peptona, agregando 5% de sangre para que el bacteroide se desarrolle y multiplique en condiciones óptimas. Para lo cual se realizó lo siguiente:

**A. Se pesó los siguientes ingredientes:**

- Peptona                      1.0gr

- Agua destilada      300ml
  - Agar Mueller Hinton    2.7g
  - Agar-agar              1.5 gr
- B. En un matraz de Erlenmeyer de 300ml, se preparó el agar base sangre, hasta obtener una dilución homogénea.
- C. Se ajustó el pH, ya que por lo general las bacterias exigen una reacción neutra o ligeramente alcalina pH 6,8 - 7,2; ya que un pH alto o bajo retarda o inhibe el crecimiento de las bacterias. Para determinar el pH, se empleó el método del papel indicador universal de pH.
- D. Se esterilizó 100ml de agar nutritivo a 15 libras de presión/pulgada a 121 °C durante 20 minutos, luego se dejó enfriar hasta 45°C.
- E. Luego se añadió asépticamente sangre en proporción del 5% del total de la solución. Luego se agitó suavemente para mezclar antes de que endurezca.
- F. Se repartieron en las placas Petri, se dejó solidificar, el color de este medio se tornó rojo - cereza.
- G. Se controló la esterilidad y posteriormente se guardó en la nevera hasta el momento de usarlos.

### 3.11.3. Aislamiento de las cepas de *Prevotella intermedia*

El aislamiento de las cepas se realizó mediante la siembra por trasplante: en el cual el material contiene una sola especie bacteriana, con la finalidad de conservar el microorganismo renovando su medio de cultivo para conocer sus propiedades biológicas y bioquímicas.

#### **Procedimiento:**

- Se esterilizó el asa por flameado y se dejó enfriar.
- Se tomó con la mano izquierda el tubo de ensayo con la muestra, se le dio leve inclinación para evitar al ser destapado, la contaminación con microorganismos del medio ambiente.
- Con la mano derecha, se sostuvo el asa y con el dedo meñique de esta misma mano, se sacó el tapón de papel aluminio del tubo.

- Se introdujo el asa sin tocar las paredes y se cargó con la suspensión, luego se retiró el asa.
- Se flameó de nuevo la boca del tubo, y se colocó la tapa.
- Inmediatamente se tomó con la mano izquierda la placa con el medio de cultivo sólido estéril, se destapó con cuidado, se introdujo el asa hasta el fondo y se hizo una línea o estría sin romper el medio de cultivo.
- Se flameo nuevamente el asa de Kolle.
- Se rotuló la placa.
- Se incubó a 37°C por 48 horas.
- Transcurrido el tiempo se observó el desarrollo del microorganismo.

### 3.12. RECOCOCIMIENTO MICROSCÓPICO Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE *Prevotella intermedia*

#### A. Coloración Gram

- Frotis en la lámina portaobjeto
- Se fijó al calor.
- Se dejó enfriar la lámina antes de colorear.
- Se colocó el portaobjeto con la muestra en la bandeja de coloración y se bañó la superficie con gotas de cristal violeta durante 1 min.
- Se lavó con agua de destilada y se bañó con lugol durante un minuto, luego se enjuagó con agua destilada.
- Se echó alcohol cetona pasada para decolorar, luego se lavó con agua destilada.
- Por último, se bañó con colorante de contraste safranina por un minuto, posteriormente se lavó con agua destilada.
- Se examinó la lámina coloreada al microscopio con objetivo 100x de inmersión (aceite).

#### B. Pruebas bioquímicas:

- Prueba a Indol: el indol producido se combinó con el aldehído del reactivo de Kovacs, para originar un compuesto de color rojo.

### **3.13. PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD MICROBIANA POR EL MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR SEGÚN KIRBY BAUER**

Un disco que tuvo una cantidad específica de un tratamiento fue aplicado a una superficie de agar inoculado con *Prevotella intermedia*. El tratamiento se difundió desde el disco al medio de cultivo produciendo una zona de inhibición.

#### **3.13.1. Preparación del agar Mueller Hinton**

Se autoclavó y se dejó enfriar hasta que alcance los 45°C - 50°C, enseguida se agregó 5% de sangre. Luego se midió el pH del agar el valor del mismo debe encontrarse entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente. Finalmente se repartió el medio en 32 placas Petri.

#### **3.13.2. Preparación del estándar 0,5 McFarland para el inóculo**

Fue preparado en tubos de ensayo, suspendiendo las colonias puras aisladas en 0.5 ml de suero fisiológico hasta obtener una turbidez de 0.5 de McFarland, que corresponde a una concentración de  $1.5 \times 10^2$ .

#### **3.13.3. Inoculación de las placas**

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Luego se inoculó en la superficie seca de la placa con agar sangre con la suspensión estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo antes de colocar los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 10 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido.

#### **3.13.4. Aplicación de los discos**

Se colocó los discos individuales sobre los pocillos en el agar con la ayuda de una pinza estéril presionando suavemente sobre cada pocillo. Se distribuyó siete pocillos con los discos uniformemente, de modo que estén a una distancia mínima de 25 mm uno del



otro (el diámetro de los discos según las normas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) debe ser de 6 mm por placa.

Posteriormente se suministró 10µl con una pipeta automática con los tratamientos del extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a diferentes concentraciones de 25%, 50% 75% y 100%.

### **3.13.1. Incubación**

Para llevar a la incubadora se tuvo en reposo por espacio de 30 minutos de todas las placas los tratamientos. Pasado el tiempo se colocó las placas Petri en posición invertida a 37°C posteriores a la aplicación de los discos. Después de las 24 y 48 horas de incubación se examinó cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco sobre la bacteria *Prevotella intermedia*.

### **3.13.2. Lectura de las placas e interpretación de los resultados**

Se midió los diámetros de las zonas de inhibición completa incluyendo el diámetro del disco, usando el calibrador vernier digital. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la placa Petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro.

## **3.14. PLAN DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se registró, codificó y clasificó los datos observados en la ficha de recolección de datos, sobre el efecto inhibitorio sobre *Prevotella intermedia* según el tiempo determinado. Para el procesamiento de datos se tomó en cuenta los siguientes criterios:

### **A. Ordenamiento**

Los datos obtenidos a través de la ficha de recolección de datos, han sido clasificados de acuerdo a la matriz de sistematización, que es un consolidado general de datos en el cual se incluyeron las unidades de estudio.

## B. Tabulación

Los datos ordenados en la matriz de sistematización de datos, fueron transferidos a los cuadros de entrada doble, las cuales sirvieron de base para su distribución numérica y porcentual.

## C. Análisis e interpretación de datos

Cada uno de los cuadros están debidamente ordenados, analizados, graficados e interpretados. En los gráficos estadísticos se consideró el resultado porcentual de los cuadros resaltando en mm según las horas establecidas. Ilustradas en barras agrupadas para comparar los valores entre las distintas frecuencias.

### 3.15. CONSIDERACIONES ÉTICAS

- Solicitud dirigida al Laboratorio de Microbiología.
- Constancia de haber realizado el extracto etanólico e infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) en el Laboratorio de ciencias Agrarias.
- Constancia de haber ejecutado el proyecto en el laboratorio de zoología aplicada de Ciencias Biológicas.
- Consentimiento informado para la toma de muestra del paciente seleccionado.

### 3.16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó la prueba de t para calcular la diferencia entre la media de los promedios de halo de inhibición de los diferentes tratamientos y la media hipotética en relación con la variabilidad de los halos de inhibición. Por lo que, mayor sea la diferencia y menor sea la variabilidad de la muestra, mayor será la probabilidad de que la media de la población difiera significativamente de la media hipotética. Se empleó la prueba de DUNCAN entre los grupos de estudio, para establecer si hay diferencias significativas entre los tiempos y tratamientos. Se utilizó el Análisis de varianza ANDEVA para evaluar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los promedios de halo inhibición y los efectos conjuntos de dos o más variables, un valor de  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 4.1. RESULTADOS

TABLA 1

Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia* mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

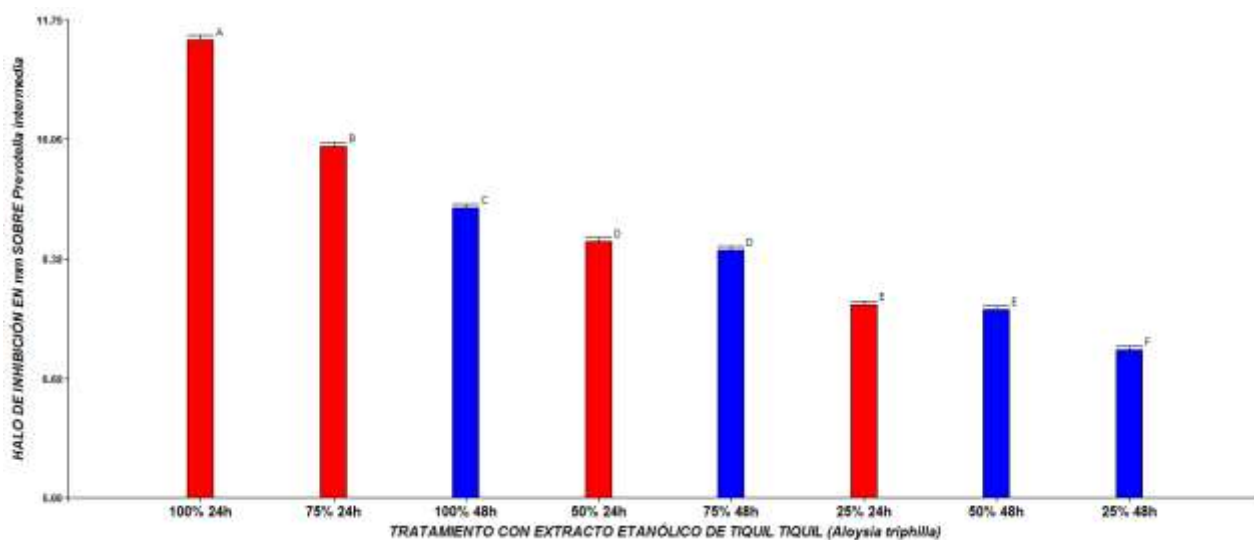
PRUEBA DE t EN EXTRACTO ETANÓLICO DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )								
Tiempo	24 horas				48 horas			
Concentración del tratamiento	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Media de los halos en mm	7.73	8.62	9.96	11.48	7.09	7.66	8.50	9.10
DE	±0.15	±0.16	±0.22	±0.18	±0.22	±0.12	±0.28	±0.18
LI de los halos en mm	7.59	8.47	9.77	11.31	6.89	7.55	8.25	8.94
LS de los halos en mm	7.86	8.76	10.15	11.64	7.29	7.76	8.75	9.26
T <sub>calculada</sub>	180.23	181.76	160.34	218.97	109.95	227.82	105.31	174.25
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

## INTERPRETACIÓN

En la tabla 1 y en la figura 1, se muestra los resultados del halo de inhibición según el tratamiento con extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) en concentraciones de: 25%, 50%, 75% y 100 y a las 24 y 48 horas; por lo que se sometió los datos a la prueba estadística de t, resultando que el mayor promedio halo de inhibición se da con el extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 100% con 11.48mm a las 24 horas, el menor promedio del halo de inhibición se tiene con el tratamiento de extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al del 25% a las 48 horas con 7.09mm. Así mismo en todos los casos la desviación estándar indica que la distribución de los datos es homogénea en relación a la media, la t<sub>calculada</sub> es mayor que la t<sub>tabulada</sub> en todos los casos, por lo que no existe dispersión en los datos, a un intervalo de confianza de 99%.

FIGURA 1

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia* mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.



**TABLA 2**

Efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25%, 50%. 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia* mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

		PRUEBA DE t EN EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> )							
Tiempo	24 horas				48 horas				
Concentración del tratamiento	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	
Media de los halos en mm	8.43	9.43	10.70	12.53	7.62	8.18	8.48	9.78	
DE	±0.15	±0.16	±0.15	±0.24	±0.30	±0.21	±0.06	±0.38	
LI de los halos en mm	8.29	9.28	10.57	12.32	7.35	7.98	8.43	9.44	
LS de los halos en mm	8.56	9.57	10.83	12.75	7.89	8.37	8.54	10.12	
T <sub>calculada</sub>	188.93	203.73	250.94	179.07	87.66	132.50	509.00	89.52	
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	

**INTERPRETACIÓN**

En la tabla 2 y en la figura 3, se muestra los resultados del halo de inhibición según el tratamiento el extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) en concentraciones de: 25%, 50%. 75% y 100 y a las 24 y 48 horas; por lo que se sometió los datos a la prueba estadística de t, resultando que el mayor promedio halo de inhibición se registra en el tratamiento con extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) a una concentración del 100% a las 24 horas con 12.53 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene el extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25% a las 48 horas con 7.62 mm de halo de inhibición. Así mismo en todos los casos la desviación estándar nos indica que la distribución de los datos son homogéneos en relación a la media, la t<sub>calculada</sub> es mayor que la t<sub>tabulada</sub> en todos los casos, por ende no existe dispersión en los datos, a un intervalo de confianza de 99%.

FIGURA 2

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

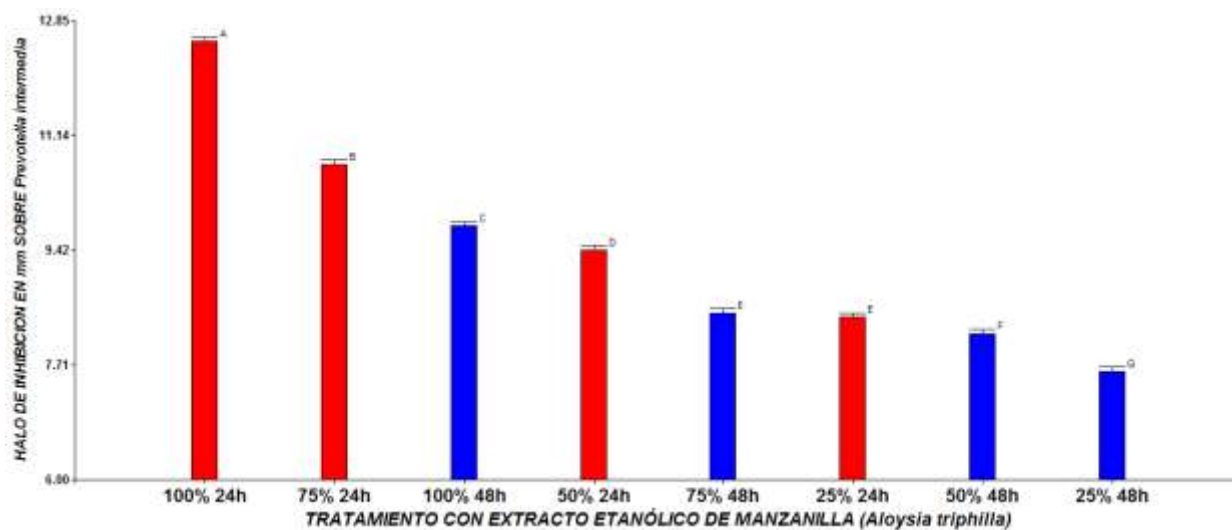


TABLA 3

Efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión al 25%, 50%, 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*), sobre las cepas de *Prevotella intermedia* mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

PRUEBA DE t EN INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )								
Tiempo	24 horas				48 horas			
Concentración del tratamiento	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Media de los halos en mm	6.80	7.42	8.36	9.35	6.24	6.70	7.32	7.96
DE	±0.10	±0.11	±0.12	± 0.16	±0.14	±0.17	±0.15	±0.22
LI de los halos en mm	6.71	7.32	8.25	9.21	6.11	6.55	7.19	7.76
LS de los halos en mm	6.89	7.52	8.47	9.49	6.37	6.85	7.45	8.15
T <sub>calculada</sub>	247.06	230.50	233.48	206.74	149.80	136.08	172.80	125.69
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 3 y en la figura 5, se muestra los resultados del halo de inhibición según el tratamiento con infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) en concentraciones 25%, 50%, 75% y 100 y a las 24 y 48 horas; por lo que se sometió los datos a la prueba estadística de t registrándose el mayor promedio de halo de inhibición con la infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 100% a las 24 horas con 9.35 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene la infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 25% a las 48 horas con 6.24 mm de halo de inhibición. Así mismo se resalta que en todos los casos la desviación estándar nos indica que las distribuciones de los datos son homogéneas en relación a la media, la t<sub>calculada</sub> es mayor que la t<sub>tabulada</sub> en todos los casos, por lo que no existe dispersión en los datos, a un intervalo de confianza de 99%.

FIGURA 3

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

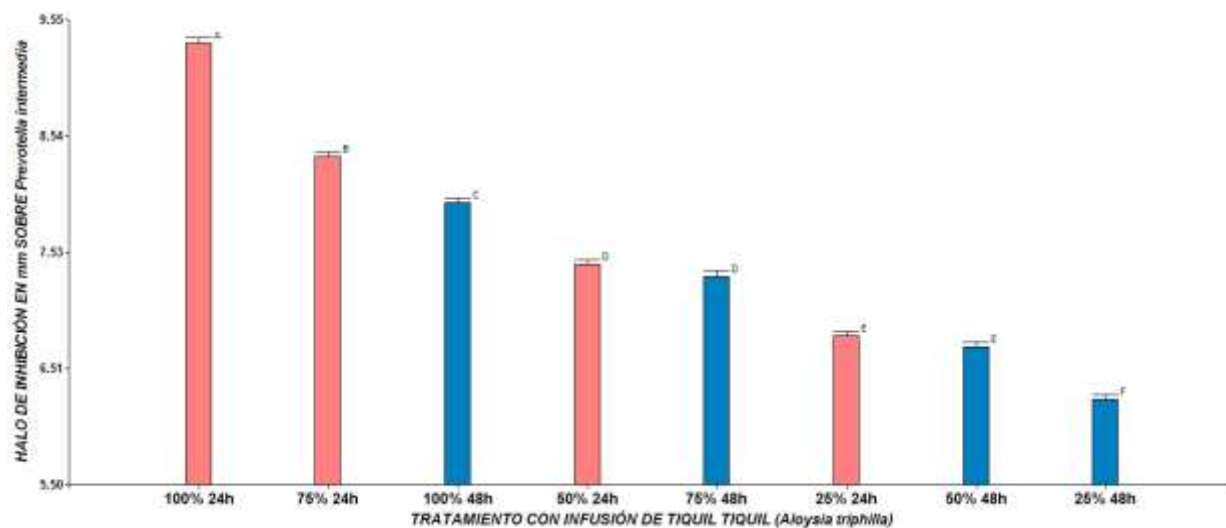




TABLA 4

Efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25 %, 50%. 75% y 100%, sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

Control	PRUEBA DE t EN INFUSIÓN DE MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> )							
	24 horas				48 horas			
Concentración del tratamiento	25%	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%
Media de los halos en mm	7.62	8.48	9.42	10.42	6.38	7.05	7.68	8.61
DE	±0.15	±0.21	±0.10	±0.13	±0.12	±0.21	±0.16	±0.08
LI de los halos en mm	7.48	8.29	9.32	10.30	6.28	6.86	7.53	8.54
LS de los halos en mm	7.48	8.29	9.32	10.53	6.28	6.86	7.53	8.68
T <sub>calculada</sub>	172.73	143.18	316.75	284.73	185.29	118.15	165.90	376.06
P	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 4 y en la figura 7, se muestra los resultados del halo de inhibición según el tratamiento con infusión de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) en diferentes concentraciones 25%, 50%. 75% y 100 y a las 24 y 48 horas; por lo que se sometió los datos a la prueba estadística de t resultando que el mayor promedio de halo de inhibición se registra en el tratamiento con la infusión de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) a una concentración del 100% a las 24 horas con 10.42 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene la infusión de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) 6.38 mm a una concentración del 25% a las 48 horas con 6.24 mm de halo de inhibición. Así mismo se resalta que en todos los casos la desviación estándar nos indica que la distribución de los datos es homogénea en relación a la media, la t<sub>calculada</sub> es mayor que la t<sub>tabulada</sub> en todos los casos, por lo que no existe dispersión en los datos, a un intervalo de confianza de 99%.

FIGURA 4

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión al 25%, 50%, 75% y 100% de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el bacterioide *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 24 y 48 horas.

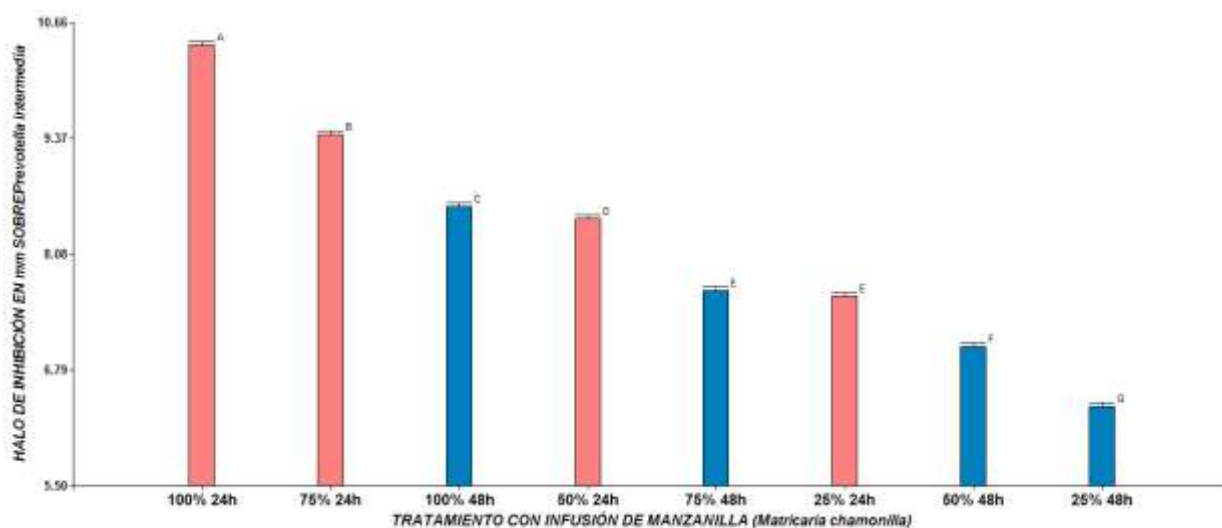


TABLA 5

Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25 %, 50%, 75% y 100%, mediante halos de inhibición, sobre *Prevotella intermedia* a las 24 horas.

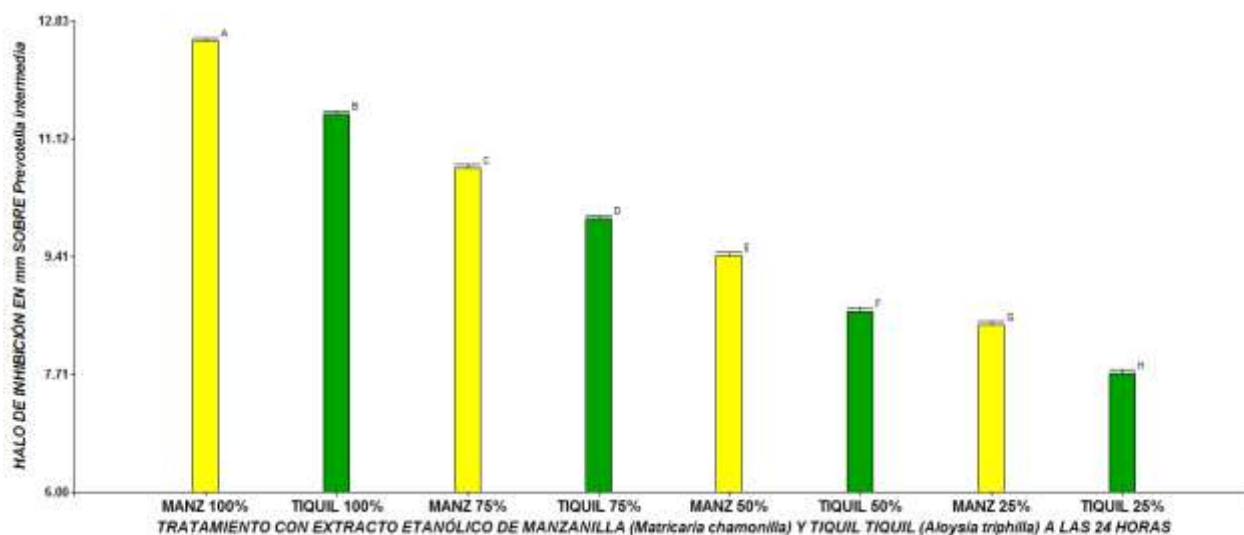
EFECTO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS										
Tratamiento	EXTRACTO ETANÓLICO TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )				EXTRACTO ETANÓLICO MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> )				Control +	Control -
	25 %	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	CHX 0.12%	AGUA DESTILADA
Promedio de los halos en mm	7.73	8.62	9.96	11.48	8.43	9.43	10.70	12.53	16.49	0

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 5 y en la figura 9, observamos los promedios de los tratamientos que tienen efecto inhibitorio, donde se aprecia que el mayor promedio se registra en el tratamiento con extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) a una concentración del 100% a las 24 horas con 12.53 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene el tratamiento con extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 25% a las 24 horas con 7.73 mm de halo de inhibición. Existiendo una diferencia entre el mayor y menor de 4.8mm.

FIGURA 5

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, mediante el halo de inhibición, sobre las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 horas.



**TABLA 6**

Efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25 %, 50%. 75% y 100%, mediante halos de inhibición, sobre *Prevotella intermedia* a las 48 horas.

EFECTO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS										
Tratamiento	EXTRACTO ETANÓLICO TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )				EXTRACTO ETANÓLICO MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> )				Control +	Control -
	Concentración	25 %	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	CHX 0.12%
Promedio de los halos en mm	7.09	7.66	8.50	9.10	7.62	8.18	8.48	9.78	16.10	0

**INTERPRETACIÓN**

En la tabla 6 y en la figura 11, observamos los promedios de los tratamientos que tienen efecto inhibitorio, donde se registra en el tratamiento con extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) a una concentración del 100% a las 48 horas con 9.78 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene el tratamiento con extracto etanólico de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 25% a las 48 horas con 7.09 mm de halo de inhibición. Existiendo una diferencia entre el mayor y menor de 2.69 mm.

FIGURA 6

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos etanólicos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50%, 75% y 100%, sobre *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición, a las 48 horas.

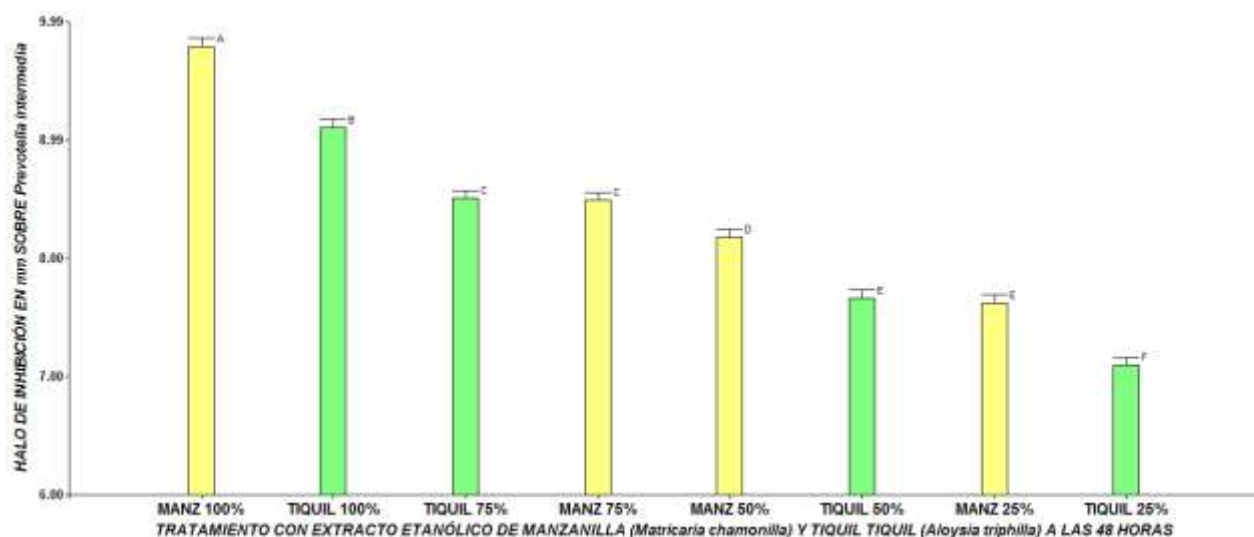


TABLA 7

Efecto inhibitorio *in vitro* de las infusiones de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamonilla*) al 25 %, 50%. 75% y 100% sobre *Prevotella intermedia*, mediante halos de inhibición, a las 24 horas.

EFECTO INHIBITORIO A LAS 24 HORAS										
Tratamiento	INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )				INFUSIÓN DE MANZANILLA ( <i>Matricaria chamonilla</i> )				Control +	Control -
	Concentración	25 %	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	CHX 0.12%
Promedio de los halos en mm	6.80	7.42	8.36	9.35	7.62	8.48	9.42	10.42	16.49	0

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 7 y en la figura 13, observamos los promedios de los tratamientos que tienen efecto inhibitorio, donde se aprecia que el mayor promedio se registra en el tratamiento con infusión de manzanilla (*Matricaria chamonilla*) a una concentración del 100% a las 24 horas con 10.42 mm de halo de inhibición, el menor promedio se registra en el tratamiento con infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) al 25% a las 24 horas con 6.80 mm de halo de inhibición, existiendo una diferencia entre el mayor y menor de 3.62 mm.

FIGURA 7

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de las infusiones de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25%, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 24 horas.

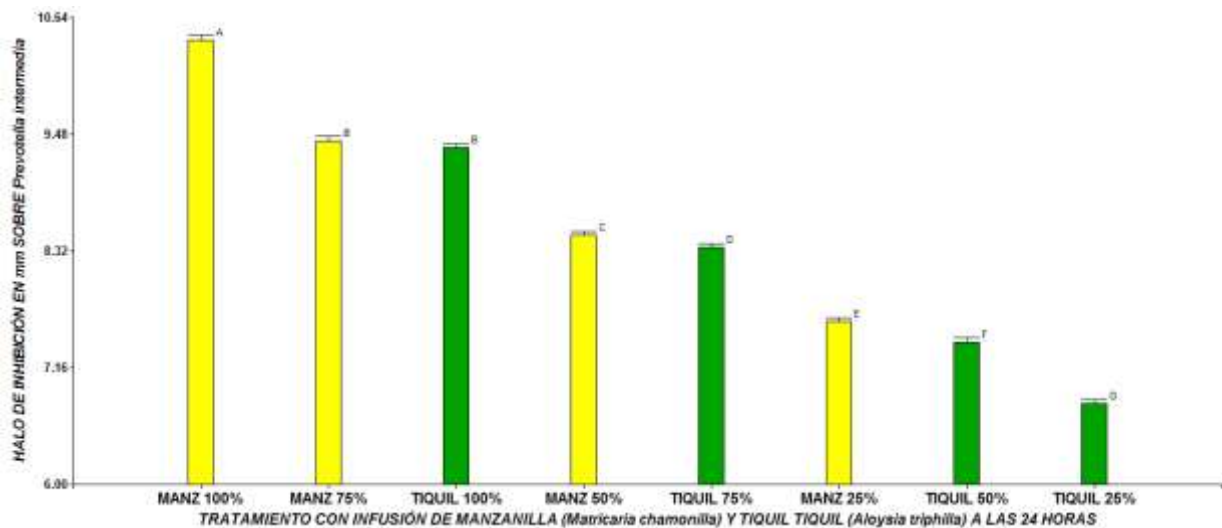




TABLA 8

Efecto inhibitorio *in vitro* de las infusiones de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) al 25 %, 50%, 75% y 100% sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante halos de inhibición, a las 48 horas.

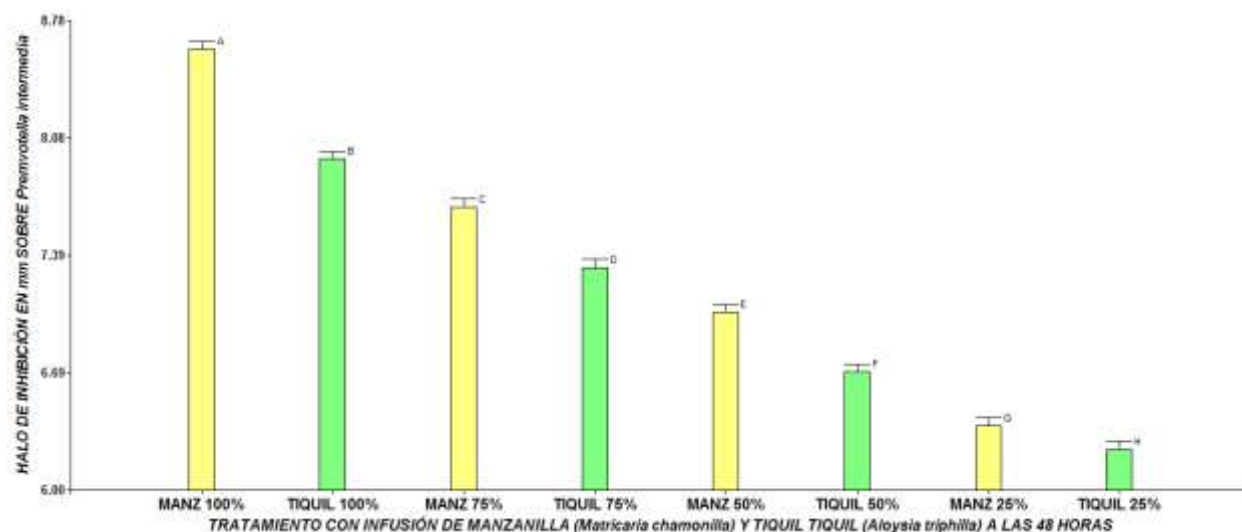
EFECTO INHIBITORIO A LAS 48 HORAS										
Tratamiento	INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL ( <i>Aloysia triphylla</i> )				INFUSIÓN DE MANZANILLA ( <i>Matricaria chamomilla</i> )				Control +	Control -
	25 %	50%	75%	100%	25%	50%	75%	100%	CHX 0.12%	AGUA DESTILAD A
Promedio de los halos en mm	6.24	6.70	7.32	7.96	6.38	7.05	7.68	8.61	16.10	0

### INTERPRETACIÓN

En la tabla 8 y en la figura 15, observamos los promedios de los tratamientos que tienen efecto inhibitorio, donde se aprecia que el mayor promedio se registra en el tratamiento con infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 100% a las 48 horas con 8.61 mm de halo de inhibición, el menor promedio lo tiene el tratamiento con infusión de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a una concentración del 25% a las 48 horas con 6.24 mm de halo de inhibición. Existiendo una diferencia entre el mayor y menor de 2.37 mm.

FIGURA 8

Comparación de medias con la prueba estadística de Duncan del efecto inhibitorio *in vitro* de las infusiones al 25%, 50%, 75% y 100% de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre las cepas de *Prevotella intermedia*, mediante el halo de inhibición a las 48 horas.



## 4.2. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales representan el único recurso terapéutico disponible para los sectores más desfavorecidos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), se calcula que las dos terceras partes de la población mundial, recurren al uso de las plantas medicinales<sup>26</sup>.

En el ámbito odontológico, el importante crecimiento mundial de la fitoterapia dentro de programas preventivos y curativos ha estimulado la investigación, con el fin de avalar la actividad antimicrobiana de distintas infusiones y extractos de plantas con el propósito de ayudar en el control de la placa bacteriana y por consiguiente en la disminución de la prevalencia e incidencia de la enfermedad periodontal<sup>8</sup>.

La presente investigación tuvo como objetivo principal: evaluar el efecto inhibitorio del extracto etanólico e infusión al 25%, 50%, 75% y 100% de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) vs tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) sobre un microorganismo de importancia en los procesos periodontales, como es la *Prevotella intermedia*. Determinándose que todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio *in vitro*. Los tratamientos con extracto etanólico e infusión de manzanilla tienen mayor efecto inhibitorio en relación a los tratamientos correspondientes de tiquil tiquil tanto a las 24 como a las 48 horas. El mejor efecto inhibitorio se dio con el tratamiento de extracto etanólico de manzanilla al 100% a las 24 horas con un promedio de halo de inhibición de 12.53mm. Resultados similares, considerada en función al diámetro del halo de inhibición del crecimiento del bacterioide, a los reportados por Sotomayor J. Ecuador (2017) quien concluyó que el aceite esencial de manzanilla al 100%, tiene la propiedad de inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* sobre la cepa de *Prevotella intermedia*, produciendo un halo de inhibición promedio de 15mm. Probablemente porque para la elaboración del aceite esencial y el extracto etanólico se utilizaron los capítulos florales que es la parte principal de la manzanilla, donde podemos encontrar la mayoría de sus compuestos químicos como: cumarinas, ácidos fenólicos, lactonas sesquiterpénicas y flavonoides<sup>35</sup>. Los cuales son grupos químicos con actividad antimicrobiana<sup>21</sup>.

Así mismo a los resultados similares al estudio realizado por Bharath N, Sowmya NK, Mehta DS India (2017), quienes evaluaron la actividad antibacteriana del extracto de grano de café verde puro en bacterias patógenas periodontales entre ellos *Prevotella*

*intermedia*; concluyendo que el extracto puro de café verde en grano tiene actividad antimicrobiana contra *Prevotella intermedia*. Probablemente porque el grano de café contiene ácido cafeico, que son ácidos orgánicos no volátiles, que inhiben el crecimiento de algunos microorganismos grampositivos y gramnegativos<sup>11</sup>, sustancia que también se encuentra en la manzanilla<sup>35</sup>.

En relación al efecto inhibitorio *in vitro* con el extracto etanólico de *Aloysia triphylla* al 100%, que tuvo como promedio de halo de inhibición de 11.48mm, se concuerda con la investigación realizada por Reaño C. Perú (2014) que determinó que el extracto de *Aloysia Triphylla* a la concentración de 10 mg/ml, tiene actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* (con 15.11mm de halo de inhibición). Probablemente porque en ambos estudios se utilizaron las hojas, las cuales contienen citral compuesto químico que tiene la propiedad de ser antibacterial<sup>26, 31</sup>.

En cuanto al tratamiento con infusiones de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) y tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*), los resultados obtenidos coinciden con la investigación de Medina A, Chang D y Elena D. Quienes concluyeron que la infusión de manzanilla al 20% disminuyó el 84.83% (16,432 UFC) de la población bacteriana de los pacientes tratados y a su vez eliminó la placa bacteriana. Esto se puede fundamentar por el hecho de que en la manzanilla se han identificado 36 flavonoides<sup>47</sup>, así mismo el tiquil tiquil contiene básicamente flavonoides<sup>25</sup> los cuales tienen actividad frente a los microorganismo<sup>21</sup>.

Comparando el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico e infusión de manzanilla y tiquil tiquil en sus concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%, se observó mayor efectividad a las 24 horas; los resultados coinciden con la investigación realizada por Cano D. y Quispe A. Perú (2017) quienes concluyeron que la infusión de Tara (*Caesalpinia spinosa*) *in vitro* tiene un efecto inhibitorio sobre las cepas de *Streptococos mutans*, en sus concentraciones de 50%, 75% y 100% y que los grupos experimentales son más efectivos a las 24 horas que a las 48 horas. Probablemente porque las infusiones se las puede conservar unas doce horas<sup>48</sup>. Además, que muchos principios activos son termolábiles y el aumento de la temperatura también puede causar la pérdida de sustancias volátiles<sup>24</sup>.

En cuanto a la concentración de cada uno de los tratamientos, se coincide con los estudios Cahuana V. y Condori T. Perú (2017) quienes realizaron un estudio para determinar el efecto inhibitorio del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, concluyendo que a mayor concentración del tratamiento se da mayor halo de inhibición. Se confirma este hecho, ya que en nuestro estudio el halo de inhibición fue directamente proporcional a la concentración del tratamiento respectivo.

Se observó en la presente investigación, que los resultados con el tratamiento de infusión de manzanilla, fueron diferentes a los reportados por la investigación de Talavera A. Perú (2013) que evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* de infusión al 2%, 4%, 8% de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre *Streptococcus mutans*. Los resultados mostraron que no hubo efecto antibacteriano *in vitro* de las infusiones sobre *Streptococcus mutans*, ya que no presentaron halos de inhibición.

Probablemente porque los compuestos fenólicos responsables de la actividad antibacteriana de manzanilla se encuentran presentes, pero no en las concentraciones adecuadas<sup>15</sup>. Además, en las infusiones se libera solamente un 10 a 15% del aceite esencial, el cual contiene azuleno<sup>35</sup>.

Así mismo los resultados del presente estudio difieren con la investigación de Mallikarjun S. et al India (2017) quienes evaluaron la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de hojas de tulsi (*Ocimum sanctum*) sobre los patógenos periodontales. En los resultados *P. intermedia*, mostró resistencia al extracto de tulsi. Los resultados discrepan con el presente estudio, probablemente porque Mallikarjun S. et al utilizó bajas concentraciones (0,5%, 1%, 2%, 5% y 10%).

Así también con el estudio realizado por Gonzalez V Ecuador (2016) que analizó el efecto antimicrobiano de la infusión de manzanilla sobre el *Actinomyces Odontolyticus* y el *Actinomyces Viscosus* en 4 periodos de tiempo por 24 horas, registrándose medidas de 11 y 12 mm a las 6 horas, y medidas de 0 mm a las 12-18-24 horas. Demostrándose así que la infusión de manzanilla es efectiva para el control microbiano bucal-dental, y que su uso preferencial es entre 4 a 6 horas. Esta diferencia se puede atribuir a variación en la composición química, la cual está influenciada por las condiciones del medio

ambiente donde se cultiva la planta, por otra parte, difieren en algunos casos las metodologías utilizadas para determinar la actividad antibacteriana<sup>30</sup>.

El efecto antiséptico de la Manzanilla es causado por la presencia de derivados terpénicos como: matricina, camazuleno,  $\alpha$ -bisabolol y los óxidos  $\alpha$  y  $\beta$  del  $\alpha$ -bisabolol<sup>35</sup> Por otro lado tiquil tiquil posee propiedades antibacterianas, por la presencia de neral y geranial<sup>26</sup>. Por el efecto inhibitorio observadas en este estudio de la manzanilla y tiquil tiquil los tratamientos se puede utilizar como coadyuvante para el tratamiento de la enfermedad periodontal, por tanto es una alternativa natural como antiséptico oral; además es de fácil acceso en las distintas comunidades del país, por su valor económico.

## V. CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a diferentes concentraciones, presenta efecto inhibitorio frente a las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas, mostrando mayor efecto a una concentración del 100% y a las 24 horas.

Los extractos etanólicos de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) a diferentes concentraciones, presenta efecto inhibitorio frente a las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas, mostrando mayor efecto a una concentración del 100% y a las 24 horas.

Las infusiones a diferentes concentraciones de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) presentan actividad antibacteriana frente a las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a una concentración del 100% y a las 24 horas.

Las infusiones a diferentes concentraciones de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) presentan actividad antibacteriana frente a las cepas de *Prevotella intermedia* a las 24 y 48 horas, siendo mayor su efecto a una concentración del 100% y a las 24 horas.

El extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) tiene mayor efecto inhibitorio que el extracto de tiquil tiquil (*Aloysia triphylla*) a las 24 horas, frente a las cepas de *Prevotella intermedia*,

El extracto etanólico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) tiene mayor efecto inhibitorio, frente a las cepas de *Prevotella intermedia*, que el extracto de *Aloysia triphylla* (tiquil tiquil) a las 48 horas.

Las infusiones de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) tiene mayor efecto inhibitorio, frente a las cepas de *Prevotella intermedia*, que la infusión de *Aloysia triphylla* (tiquil tiquil) a las 24 horas.

Por lo tanto, se concluye que todos los tratamientos tienen efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Prevotella intermedia* y que, a mayor concentración del tratamiento, mayor efectividad. De igual forma el efecto inhibitorio de todos los tratamientos disminuye a las 48 horas. Así mismo Los tratamientos con extracto etanólico e infusión de manzanilla tiene mayor efecto inhibitorio en relación a los tratamientos correspondientes de tiquil tiquil tanto a las 24 como 48 horas.

## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio *in vitro* de tiquil tiquil en otras presentaciones como aceite esencial sobre *Prevotella intermedia*.
- Se recomienda continuar el estudio con tratamientos de manzanilla y tiquil tiquil, frente a otras bacterias patógenas de la cavidad bucal.
- Realizar estudios *in vivo* con la infusión y extracto etanólico de manzanilla y tiquil tiquil a diferentes concentraciones para verificar su eficacia antimicrobiana, tolerancia y seguridad.
- Utilizar con mayor frecuencia enjuagues bucales a base de infusiones de manzanilla y tiquil tiquil, ya que estos no presentan efectos secundarios.
- Fomentar la investigación en la manzanilla y tiquil tiquil para descubrir las propiedades que posee en beneficio de la Odontología; y poder aumentar sus efectos con la combinación de ambas, y porque no intentar patentar algún producto que resulte de las investigaciones.
- Teniendo en cuenta que existen varios estudios *in vitro* de diferentes plantas medicinales, sobre microorganismos de la cavidad bucal, se recomienda continuar los estudios *in vivo*; con el apoyo e incentivo de la universidad ya que este tipo de investigaciones requieren de tiempo, infraestructura (laboratorios) e inversión económica (instrumental e insumos). Con la finalidad de hacer uso y aplicar los resultados en el ámbito clínico odontológico.



## VII.REFERENCIAS

1. Carranza N. Periodontología clínica. Novena edición. España: McGraw-Hill; 2004.
2. Borja V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*), extracto de llantén (*Plantágo major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de *Porphyromona gingivalis*. (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2017.
3. Luna et al. Actividad de *Rosmarinus officinalis* sobre bacterias presentes en enfermedad periodontal. Academia Journals. 2016; 993-998.
4. Dávila L, Giménez X, Arteaga S, Solórzano E. Fundamentos básicos para el diagnóstico clínico periodontal. Universidad de los Andes. Consejo de publicaciones. Primera edición. Venezuela. 2012.
5. Organización mundial de la salud. centro de prensa. [Internet]. 2004 [citado 1 mayo 2018]. OMS [aprox 2 pantallas] Disponible en:<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr15/es/>.
6. Liébana J. Microbiología oral. Segunda edición. España: McGraw-Hill. 2002
7. Marzal, C. Estudio de la mucosa oral en pacientes que emplean colutorios. (Tesis doctoral inédita). Universidad de Valencia, España. 2012.
8. Cañigueral, S., Dellacassa, E. y Bandoni, A. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? Lat Am J Pharm. 2003; 22 (3): 265-278.
9. Santamaria J. Efecto inhibitorio del aceite esencial de manzanilla vs ácido acético sobre la cepa de *Prevotella Intermedia*. Estudio *in vitro*. (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2017.
10. Reaño C. Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos de *Aloysia Triphylla*, “cedron”, *Rosmarinus Officinalis* “romero”, *Mentha Spicata* “hierva buena”, *Portulaca Oleracea* “verdolaga” y *Taraxacum Officinale* “diente de león”. (Tesis). Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 2014.
11. Borja V. Efecto inhibitorio del extracto de manzanilla (*Matricaria Chamomilla*), extracto de llantén (*Plantágo major L.*) y la combinación del extracto de manzanilla y llantén comparado con la clorhexidina sobre cepa de

- Porphyromona gingivalis*. (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2017.
12. Mallikarjun S, Rao A, Rajesh G, Shenoy R, Pai M. Antimicrobial efficacy of Tulsi leaf (*Ocimum sanctum*) extract on periodontal pathogens: An *in vitro* study. J Indian Soc Periodontol. 2016; 20(2):145-50.
  13. Gonzalez V. Efecto antimicrobiano de la infusión de manzanilla sobre el *actinomyces odontolyticus* y el *actinomyces viscosus*: estudio *in vitro*. (Tesis). Universidad Central del Ecuador. Ecuador. 2016.
  14. Medina D. y Chang E. Infusión de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*) como tratamiento para la enfermedad periodontal canina. Rev. Electrón. 2017; 18 (9):1-21.
  15. Talavera A. Efecto antibacteriano *in vitro* de infusión de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre *Streptococcus mutans* - Puno 2013. (Tesis). Universidad Nacional del Altiplano. Perú. 2014
  16. Cano D. y Quispe A. efecto inhibitorio *in vitro* de la infusión y aceite esencial de *Caesalpinia spinosa* (TARA) sobre las cepas de *Streptococos mutans* Puno – 2017. (Tesis) Universidad Nacional del Altiplano. Puno. 2017.
  17. Cahuana V. y Condori T. Efectividad Inhibitoria *in vitro* del extracto etanólico del *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* Puno 2017.(Tesis). Universidad Nacional del Altiplano Puno. Perú.2017.
  18. Cañihual S. La fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia. 2002; 2 (2): 101-121.
  19. Pachuco F. Uso de plantas medicinales como analgésico antiinflamatorio en la parroquia Quisapincha comunidad Pucara Chico. (Tesis). Universidad técnica de Ambato. Ecuador. 2018
  20. Vanaclocha B, Cañihual S. Fitoterapia Vademécum de prescripción. Cuarta edición. España: Masson; 2003.
  21. Domingo D, Lopez M. Plantas con acción antibacteriana. Rev Esp Quimioterap. 2013; 16(4):185-396
  22. Catalina M. Fitoterapia: el poder terapéutico de las plantas. Portales médicos. Com. [Internet]. 2010 [citado 15 abril 2018] 13(8). Disponible en: [www.Portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/2264/7/fitoterapia.-El-poder-terapeutico-de-las-plantas](http://www.Portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/2264/7/fitoterapia.-El-poder-terapeutico-de-las-plantas).

23. Bruno M. Preparación y uso de macerados, infusiones y decocciones. Primera Edición. España. Bruno del médico; 2014.
24. Sharapin N. Machado L, Pinzón S. Fundamento de la tecnología de productos fitoterapéuticos. Primera edición. Colombia: Santafé de Bogotá; 2000.
25. Muñoz O. Pantas medicinales de uso en Chile Química y farmacología. Segunda Edición. Chile: Editorial Universitaria S.A; 2004.
26. Aliaga P. Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Aloysia triphylla* P. “Cedron” frente a *Escherichia coli* ATTC 25022 y *Staphylococcus aureus* 25923. (Tesis). Universidad Nacional Jorge Basadre Grochman. Perú. 2013.
27. Rojas J, Palacios C, Ronceros S. Efecto del aceite esencial de *Aloysia triphylla* britton (cedrón) sobre el *Trypanosoma cruzi* en ratones. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2012; 29(1):61-68.
28. *Lippia Triphylla Kuntze*. [Internet]. España. [actualizado; citado 18 abril 2018]. Scribd. [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/61642191/Lippia-triphylla-Kuntze>.
29. *Aloysia citriodora*. [Internet]. España. 2006 [actualizado 14 de febrero 2018; citado 15 mayo 2018]. Wikipedia [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/Aloysia\\_citriodora](https://es.wikipedia.org/wiki/Aloysia_citriodora).
30. Rojas L et al. Composición química y efecto antibacteriano del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L’Hér.) Britton contra patógenos genito-uritarios. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat. 2009; 9(1): 56-62.
31. Bensabah F, Lamiri A, Naja J. Effect of purified wasterwater from the city of Settat (Morocco) on the quality, of *Lippia citriodora* essential oil and infusion. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2015; 14: 101-108.
32. Rojas J et al. Evaluación de la toxicidad del aceite esencial de *Aloysia triphylla* Britton (cedrón) y de la actividad anti-*Trypanosoma cruzi* del citral, in vivo. An Fac med. 2015; 76(2):129-34.
33. Gomez M, Reyes S, Paredes L. La manzanilla y sus propiedades medicinales. Revista de Investigación e información en Salud. 2015; 10(23): 54-58.
34. Hipo A. Aceites esenciales y compuestos fenólicos de la *Matricaria chamomilla* (manzanilla) en la producción de pollos pio. (Tesis). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. 2016.

35. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales. Segunda edición. España: Acriba. 2001.
36. Martinez M. Cuantificación de *Porphyromona gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* por PCR en tiempo real en pacientes sanos, con gingivitis y periodontitis crónica. (Tesis). Pontificia Universidad Javeriana. 2014
37. Negroni M. Microbiología Estomatología Fundamentos y guía práctica. Segunda Edición. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2009, p.
38. Luna JH, Minjung K, Lee J. Genoma secuencia de *Prevotella intermedia* SUNY Ab G8-9k-3, una nio fi Im. Brazilian Journal of Microbiology. 2016; 4(8): 5-6
39. Mendoza G. La Periodontología: Científica y Clínica. Primera Edición. Lima: Lima Universidad de San Martin de Porres; 2011
40. Eley B, Soory M, Manson J. Periodoncia. Sexta edición. España: Elsevier; 2012.
41. Castañeda E. Periodoncia. Segunda edición. Puno. Editorial; 2013
42. Doke M et al. Nucleases from *Prevotella intermedia* can degrade neutrophil extracellular traps. Molecular Oral Microbiology. 2017; 32: 288-300.
43. Lamont R, Hajishengallis G, Jenkison H. Microbiología e inmunología oral. Segunda edición, México: El Manual Moderno. 2015.
44. Vicuña S. Manejo periodontal del paciente diabético. (Tesis). Universidad de las Américas. Ecuador. 2016.
45. Torres M, Alvarez M, Acosta A. La clorhexidina, bases estructurales y aplicaciones en la estomatología. Gaceta Medica Espirituana. 2009; 11(1):728-34.
46. Gulati R, Bhatnagar P, Bhatnagar A. Antimicrobial Efficacy of Chemical and Herbal Agents against *Streptococcus mutans*: An *in vitro* study. Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clinica Integrada. 2018; 18(1):4008.
47. Pirzad, A et al Essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla L.*) at different irrigation regimes. J Agron. 2006; 5(3), 451-455.
48. Pamplona, J. Enciclopedia de las Plantas Medicinales. Primera edición. España: Safeliz. 2006.

VIII. ANEXOS

ANEXO A

BASE DE DATOS

Rep.	INFUSIÓN DE MANZANILLA				EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA				INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL				EXTRACTO ETANÓLICO DE TIQUIL TIQUIL				Control		
	100 %	75%	50%	25%	100 %	75%	50 %	25 %	100 %	75 %	50 %	25 %	100 %	75%	50 %	25 %	+	-	
CONTROL A LAS 24 HORAS	1	10.5	9.4	8.4	7.4	12.7	10.8	9.6	8.5	9.2	8.4	7.2	6.8	11.2	10.1	8.4	7.5	16	0
	2	10.6	9.5	8.5	7.6	12.8	10.8	9.4	8.4	9.1	8.5	7.4	6.9	11.3	10.2	8.5	7.6	16.5	0
	3	10.4	9.4	8.4	7.7	12.6	10.6	9.5	8.6	9.3	8.1	7.3	6.7	11.3	9.9	8.6	7.7	15.9	0
	4	10.5	9.3	8.3	7.5	12.8	10.7	9.4	8.7	9.2	8.3	7.5	6.8	11.5	9.8	8.4	7.9	16.2	0
	5	10.6	9.4	8.2	7.4	12.7	10.4	9.6	8.5	9.3	8.4	7.4	6.9	11.4	10.1	8.7	7.6	16.5	0
	6	10.4	9.2	8.3	7.6	12.8	10.5	9.7	8.3	9.2	8.5	7.3	6.6	11.3	9.8	8.4	7.5	16.4	0
	7	10.3	9.4	8.9	7.7	12.1	10.9	9.2	8.5	9.4	8.4	7.4	6.8	11.5	10.1	8.7	7.8	16.8	0
	8	10.4	9.5	8.8	7.8	12.2	10.8	9.3	8.2	9.5	8.3	7.5	6.8	11.6	10.2	8.8	7.7	16.9	0
	9	10.5	9.4	8.4	7.9	12.5	10.6	9.5	8.3	9.4	8.2	7.6	6.9	11.5	9.7	8.6	7.9	16.7	0
	10	10.3	9.5	8.4	7.7	12.4	10.8	9.4	8.2	9.5	8.3	7.4	6.7	11.6	9.6	8.7	7.8	16.5	0
	11	10.2	9.6	8.5	7.5	12.5	10.7	9.3	8.4	9.6	8.4	7.5	6.9	11.8	9.8	8.9	7.9	16.8	0
	12	10.3	9.4	8.6	7.6	12.3	10.8	9.2	8.5	9.5	8.5	7.5	6.8	11.7	10.2	8.7	7.8	16.7	0
CONTROL A LAS 48 HORAS	1	8.6	7.5	6.9	6.5	10	8.5	8	7.5	7.7	7.5	6.5	6.1	8.9	8.8	7.8	6.8	16	0
	2	8.7	7.5	6.9	6.5	9.8	8.5	8.3	7.5	7.7	7.4	6.5	6.1	8.9	8.7	7.8	6.8	16	0
	3	8.5	7.6	7	6.4	10.2	8.4	8	7.9	7.7	7.5	6.5	6.1	8.9	8.7	7.7	6.9	16	0
	4	8.6	7.8	7.1	6.3	9	8.5	8.3	7.5	7.8	7.5	6.9	6.1	9.3	8.7	7.6	6.9	16	0
	5	8.6	7.5	7	6.3	10.4	8.5	8	7.8	7.8	7.4	6.9	6.1	9	8.7	7.6	7	15.8	0
	6	8.7	7.5	6.9	6.3	9.5	8.5	8	8	7.9	7.3	6.9	6.2	9.2	8.7	7.8	6.9	15.7	0
	7	8.6	7.6	6.8	6.2	9.6	8.5	8.3	7.9	8.1	7.3	6.8	6.3	8.9	8.5	7.7	7.3	16	0
	8	8.5	7.9	7.2	6.3	9.6	8.5	8	7.1	8.2	7.2	6.8	6.4	9.2	8.5	7.7	7.3	16	0
	9	8.7	7.8	6.8	6.4	10	8.4	8.3	7.1	8.3	7.1	6.7	6.3	9.3	8.5	7.5	7.3	16.5	0
	10	8.6	7.7	7.3	6.5	10.1	8.6	8.5	7.5	8.1	7.3	6.6	6.4	9.3	8	7.5	7.3	16	0
	11	8.7	7.8	7.4	6.6	9.6	8.4	8.5	7.8	8.2	7.2	6.5	6.3	9.3	8.1	7.5	7.3	15.8	0
	12	8.5	7.9	7.3	6.3	9.6	8.5	7.9	7.8	8	7.1	6.8	6.5	9	8.1	7.7	7.3	15.9	0

Tomado de: Laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas.

Fuente: Propia de los investigadores.

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Extracto etanólico de tiquil tiquil al 25%, 50%. 75% y 100%.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	96	0.98	0.98	2.22

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	168.95	7	24.14	637.97	<0.0001
TRATAMIENTO	168.95	7	24.14	637.97	<0.0001
Error	3.33	88	0.04		
Total	172.28	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0378 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
100% ET 24 HORAS	11.48	12	0.06	A
75% ET 24 HORAS	9.96	12	0.06	B
100% ET 48 HORAS	9.10	12	0.06	C
50% ET 24 HORAS	8.62	12	0.06	D
75% ET 48 HORAS	8.50	12	0.06	D
25% ET 24 HORAS	7.73	12	0.06	E
50% ET 48 HORAS	7.66	12	0.06	E
25% ET 48 HORAS	7.09	12	0.06	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Extracto etanólico de manzanilla al 25%, 50%. 75% y 100%.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICIÓN EN mm	96	0.98	0.98	2.42

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	217.52	7	31.07	601.77	<0.0001
TRATAMIENTO	217.52	7	31.07	601.77	<0.0001
Error	4.54	88	0.05		
Total	222.06	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0516 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
100% EM 24 HORAS	12.53	12	0.07	A
75% EM 24 HORAS	10.70	12	0.07	B
100% EM 48 HORAS	9.78	12	0.07	C
50% EM 24 HORAS	9.43	12	0.07	D
75% EM 48 HORAS	8.48	12	0.07	E
25% EM 24 HORAS	8.43	12	0.07	E
50% EM 48 HORAS	8.18	12	0.07	F
25% EM 48 HORAS	7.62	12	0.07	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Infusión de tiquil tiquil al 25%, 50%. 75% y 100%.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICIÓN	96	0.98	0.98	2.00

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	85.45	7	12.21	539.58	<0.0001
TRATAMIENTO	85.45	7	12.21	539.58	<0.0001
Error	1.99	88	0.02		
Total	87.44	95			

#### Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0226 gl: 88

#### TRATAMIENTO Medias n E.E.

100% 24h	9.35	12	0.04	A
75% 24h	8.36	12	0.04	B
100% 48h	7.96	12	0.04	C
50% 24h	7.42	12	0.04	D
75% 48h	7.32	12	0.04	D
25% 24h	6.80	12	0.04	E
50% 48h	6.70	12	0.04	E
25% 48h	6.24	12	0.04	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Infusión al 25%, 50%. 75% y 100% de manzanilla.

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICIÓN	96	0.99	0.99	1.83

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	142.50	7	20.36	899.82	<0.0001
TRATAMIENTO	142.50	7	20.36	899.82	<0.0001
Error	1.99	88	0.02		
Total	144.49	95			

#### Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.0226 gl: 88

#### TRATAMIENTO Medias n E.E.

100% 24h	10.42	12	0.04	A
75% 24h	9.42	12	0.04	B
100% 48h	8.61	12	0.04	C
50% 24h	8.48	12	0.04	D
75% 48h	7.68	12	0.04	E
25% 24h	7.62	12	0.04	E
50% 48h	7.05	12	0.04	F
25% 48h	6.38	12	0.04	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Extractos etanólicos de tiquil tiquil y manzanilla al 25%, 50%. 75% y 100% a las 24 horas.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	96	0.99	0.99	1.82

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	225.87	7	32.27	998.96	<0.0001
TRATAMIENTO	225.87	7	32.27	998.96	<0.0001
Error	2.84	88	0.03		
Total	228.71	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0323 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
100% EM 24 HORAS	12.53	12	0.05	A
100% ET 24 HORAS	11.48	12	0.05	B
75% EM 24 HORAS	10.70	12	0.05	C
75% ET 24 HORAS	9.96	12	0.05	D
50% EM 24 HORAS	9.43	12	0.05	E
50% ET 24 HORAS	8.62	12	0.05	F
25% EM 24 HORAS	8.43	12	0.05	G
25% ET 24 HORAS	7.73	12	0.05	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Extractos etanólicos de tiquil tiquil y manzanilla al 25%, 50%. 75% y 100% a las 48 horas.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICION EN mm	96	0.93	0.92	2.88

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	63.22	7	9.03	157.98	<0.0001
TRATAMIENTO	63.22	7	9.03	157.98	<0.0001
Error	5.03	88	0.06		
Total	68.25	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0572 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
100% EM 48 HORAS	9.78	12	0.07	A
100% ET 48 HORAS	9.10	12	0.07	B
75% ET 48 HORAS	8.50	12	0.07	C
75% EM 48 HORAS	8.48	12	0.07	C
50% EM 48 HORAS	8.18	12	0.07	D
50% ET 48 HORAS	7.66	12	0.07	E
25% EM 48 HORAS	7.62	12	0.07	E
25% ET 48 HORAS	7.09	12	0.07	F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



Infusiones de tiquil tiquil y manzanilla al 25%, 50%. 75% y 100% a las 24 horas.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICIÓN	96	0.99	0.99	1.63

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	121.18	7	17.31	902.30	<0.0001
TRATAMIENTO	121.18	7	17.31	902.30	<0.0001
Error	1.69	88	0.02		
Total	122.87	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0192 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
MANZ 100%	10.42	12	0.04	A
MANZ 75%	9.42	12	0.04	B
TIQUIL 100%	9.35	12	0.04	B
MANZ 50%	8.48	12	0.04	C
TIQUIL 75%	8.36	12	0.04	D
MANZ 25%	7.62	12	0.04	E
TIQUIL 50%	7.42	12	0.04	F
TIQUIL 25%	6.80	12	0.04	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

Infusiones al 25%, 50%. 75% y 100% de tiquil tiquil y manzanilla a las 48 horas.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALO DE INHIBICIÓN	96	0.96	0.96	2.23

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	55.70	7	7.96	305.33	<0.0001
TRATAMIENTO	55.70	7	7.96	305.33	<0.0001
Error	2.29	88	0.03		
Total	57.99	95			

**Test:Duncan Alfa=0.05**

Error: 0.0261 gl: 88

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.	
MANZ 100%	8.61	12	0.05	A
TIQUIL 100%	7.96	12	0.05	B
MANZ 75%	7.68	12	0.05	C
TIQUIL 75%	7.32	12	0.05	D
MANZ 50%	7.05	12	0.05	E
TIQUIL 50%	6.70	12	0.05	F
MANZ 25%	6.38	12	0.05	G
TIQUIL 25%	6.24	12	0.05	H

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

ANEXO C  
CONSTANCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ZOOLOGÍA APLICADA



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA PUNO

HACE CONSTAR:

Que, las Bachilleres **Mariela Katia APAZA MAMANI** y **Katya Rina CONDORI PARI**, egresados de la Escuela Profesional de Odontología, de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ha realizado la ejecución del proyecto de tesis titulado **“EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO E INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) VS MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO\_2018”**, el cual fue realizado durante el periodo enero – abril del 2018.

Se emite la presente constancia a solicitud de los interesados.



Raimundo Longo Palacios Frisancho  
# 1 2 1 0 0 0  
D. G. P. N. O. 2 1 2 2

Puno, Abril del 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO –  
PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
**LABORATORIO DE ZOOLOGÍA  
APLICADA**



## CERTIFICACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA

EL QUE SUSCRIBE:

Certifica que la pureza de la *Prevotella intermedia*, se ha obtenido tomando en cuenta el siguiente procedimiento:

1. El medio de cultivo que se utilizó para el aislamiento es agar Mueller Hinton, para ver su actividad hemolítica se realizó la réplica en agar sangre, para la identificación de la *Prevotella intermedia*.
2. Para la identificación de la *Prevotella intermedia* se tomó en cuenta los criterios fenotípicos:
  - a. Morfología macroscópica (colonias): color café opaco pigmentado, de bordes irregulares, convexos, superficie granular.
  - b. Morfología microscópica y características tintoriales: cocos-bacilos Gram negativos, de unidistribución, sin asociación.
  - c. Requerimientos ambientales para el crecimiento: es anaerobio estricto, aumenta su crecimiento en presencia de CO<sub>2</sub> al 5% y a 37 °C.
  - d. Resistencia o sensibilidad a los antibióticos: sensible a colistina (10µg) y resistente a karamicina.
  - e. Propiedades bioquímicas: indol positivo, catalasa negativo, lipasa positivo, ureasa negativo.

NOTA: Para la obtención de esta cepa pura se siguió los métodos estándares propuesto por el Instituto Nacional de Salud.

  
Lorgio Palacios Fricancho  
BIÓLOGO  
D.B.P. Nº 8125



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO –  
PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA  
LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



## CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE HACE CONSTAR:

Que, las Bachilleres **MARIELA KATYA APAZA MAMANI** y **KATYA RINA CONDORI PARI**, egresadas de la Escuela Profesional de Odontología, de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, han realizado el **EXTRACTO ETANÓLICO POR MACERACIÓN E INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) Y MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*)**, para el proyecto de tesis titulado **“EFECTO INHIBITORIO *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO E INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) VS MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO 2018”**, el cual fue realizado en el mes de febrero del 2018.

Se emite la presente constancia a solicitud del interesado.



Puno, febrero del 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
 ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA  
 LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



**RESULTADO DE ANÁLISIS**

**ASUNTO: ANÁLISIS DE LAS PLANTAS: MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) y TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphylla*)**

**PROCEDENCIA** : DIST. Y DEPARTAMENTO – PUNO 3930 m.s.n.m.  
**INTERESADO** : KATYA RINA CONDORI PARI, MARIELA KATIA PAPAZA MAMANI  
**PRODUCTO** : PARTE AEREA DE MANZANILLA  
**FECHA DE ANÁLISIS** : 15/02/ 2018  
**FECHA DE ENTREGA** : 22/02/ 2018

**IDENTIFICACION DE LA MUESTRA:**

**REYNO** : Plantae  
**DIVISION** : Magnoliophyta  
**CLASE** : Magnoliopsida  
**ORDEN** : Asterales  
**FAMILIA** : Astéraceae(Compositae)  
**GENERO** : *Matricaria*  
**ESPECIE** : *Matricaria chamomilla*

**CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA MUESTRA:**

**ASPECTO** : Solido, libre de materias extrañas, malas hierbas, plagas y hongos  
**COLOR** : verde  
**TALLOS, HOJAS Y FLORES** : Consistencia blanda, hojas sésiles filiformes y flores con lígula blanca y flósculos amarillos.  
**CANTIDAD** : 2 Kg. Aproximadamente

**PROCEDENCIA** : DIST. Y DEPARTAMENTO – AREQUIPA 2.335 m m.s.n.m.  
**INTERESADO** : KATYA RINA CONDORI PARI, MARIELA KATIA PAPAZA MAMANI  
**PRODUCTO** : PARTE AEREA DE TIQUIL TIQUIL  
**FECHA DE ANÁLISIS** : 15/02/ 2018  
**FECHA DE ENTREGA** : 22/02/ 2018

**REYNO** : Plantae  
**DIVISION** : Magnoliophyta  
**CLASE** : Magnoliopsida  
**ORDEN** : Lamiales  
**FAMILIA** : Verbenáceas  
**GENERO** : *Aloysia*  
**ESPECIE** : *Aloysia triphylla*

**CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS DE LA MUESTRA:**

**ASPECTO** : Solido, libre de materias extrañas, malas hierbas, plagas y hongos  
**COLOR** : Verde claro  
**TALLOS, HOJAS Y FLORES** : Consistencia blanda, adherida al tallo, hojas agrupadas en verticilos trímeros, lanceoladas y flores pequeñas, blancas por fuera y violáceas por dentro.  
**CANTIDAD** : 2 Kg. aproximadamente

Puno, C.U. febrero del 2018.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO  
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
 ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA  
 LABORATORIO DE SUELOS Y AGUA



**PROCESAMIENTO DE EXTRACTO ETANÓLICO DE TIQUIL TIQUIL Y MANZANILLA**

Se inició la deshidratación y pulverizado de la muestra, seguido de la colocación de la muestra en el recipiente color ámbar, agregándole 30% de agua destila y 70% de albolol etílico, con agitación por 5 minutos diariamente. Luego se filtró y el filtrado obtenido se evaporó todo el solvente por per vaporación de aire.

**CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS**

extracto	Agua destilada	Concentración
100ml	0ml	100%
75ml	25ml	75%
50ml	50ml	50%
25ml	75ml	25%

**PROCESAMIENTO DE INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL Y MANZANILLA**

Se inició la deshidratación y pulverizado de la muestra, seguido de la colocación de la muestra se llevaron a 100ml de agua destilada, se dejó en ebullición durante cinco minutos en un matraz cubierto con papel aluminio, para evitar en lo posible una pérdida acuosa por evaporación.

**CONCENTRACIÓN DE LAS INFUSIONES**

Muestra pulverizada	Agua destilada	Concentración
100g	100ml	100%
75g	100ml	75%
50g	100ml	50%
25g	100ml	25%

Puno, C.U. febrero del 2018.

ANEXO D

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

"EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO E INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) VS MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO 2018"

Muestra: pacientes que acuden a servicio odontológico privado  
 Tratamientos: infusión y extracto etanólico de manzanilla y tiquil tiquil  
 Medio de cultivo utilizado: agar Mueller Hinton  
 Cepas de estudio: *Prevotella intermedia*

Rep.	INFUSIÓN DE MANZANILLA				EXTRACTO ETANÓLICO DE MANZANILLA				INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL				EXTRACTO ETANÓLICO DE TIQUIL TIQUIL				Control		
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	+	-	
CONTROL A LAS 24 HORAS	1	10.5	9.4	8.4	7.4	12.7	10.8	9.6	8.5	9.2	8.4	7.2	6.8	11.2	10.1	8.4	7.5	16.0	0
	2	10.6	9.5	8.5	7.6	12.8	10.8	9.4	8.4	9.1	8.5	7.4	6.9	11.3	10.2	8.5	7.6	16.5	0
	3	10.4	9.4	8.4	7.3	12.6	10.6	9.5	8.6	9.3	8.1	7.3	6.7	11.3	9.9	8.6	7.7	15.9	0
	4	10.5	9.3	8.3	7.5	12.8	10.7	9.4	8.7	9.2	8.3	7.5	6.8	11.5	9.8	8.4	7.9	16.2	0
	5	10.6	9.4	8.2	7.4	12.7	10.4	9.6	8.5	9.3	8.4	7.4	6.9	11.4	10.1	8.7	7.6	16.5	0
	6	10.4	9.2	8.3	7.6	12.8	10.5	9.7	8.3	9.2	8.5	7.3	6.6	11.3	9.8	8.4	7.5	16.4	0
	7	10.3	9.4	8.9	7.7	12.1	10.9	9.2	8.5	9.4	8.4	7.4	6.8	11.5	10.1	8.7	7.8	16.8	0
	8	10.4	9.5	8.8	7.8	12.2	10.8	9.3	8.2	9.5	8.3	7.5	6.8	11.6	10.2	8.8	7.7	16.9	0
	9	10.5	9.4	8.4	7.9	12.5	10.6	9.5	8.3	9.4	8.2	7.6	6.9	11.5	9.7	8.6	7.9	16.7	0
	10	10.3	9.5	8.4	7.7	12.4	10.8	9.4	8.2	9.5	8.3	7.4	6.7	11.6	9.6	8.7	7.8	16.5	0
	11	10.2	9.6	8.5	7.5	12.5	10.7	9.3	8.4	9.6	8.4	7.5	6.9	11.8	9.8	8.9	7.9	16.8	0
	12	10.3	9.4	8.6	7.6	12.3	10.8	9.2	8.5	9.5	8.5	7.5	6.8	11.7	10.2	8.7	7.8	16.7	0
CONTROL A LAS 48 HORAS	1	8.6	7.5	6.9	6.5	10.0	8.5	8.0	7.5	7.7	7.5	6.5	6.1	8.9	8.8	7.8	6.8	16.0	0
	2	8.7	7.5	6.9	6.5	9.8	8.5	8.3	7.5	7.7	7.4	6.5	6.1	8.9	8.7	7.8	6.8	16.0	0
	3	8.5	7.6	7.0	6.4	10.2	8.4	8.0	7.9	7.7	7.5	6.5	6.1	8.9	8.7	7.7	6.9	16.0	0
	4	8.6	7.8	7.1	6.3	9.0	8.5	8.3	7.5	7.8	7.5	6.9	6.1	9.3	8.7	7.6	6.9	16.0	0
	5	8.6	7.5	7.0	6.3	10.4	8.5	8.0	7.8	7.8	7.4	6.9	6.1	9.0	8.7	7.6	7.0	15.8	0
	6	8.7	7.5	6.9	6.3	9.5	8.5	8.0	8.0	7.9	7.3	6.9	6.2	9.2	8.7	7.8	6.9	15.7	0
	7	8.6	7.6	6.8	6.2	9.6	8.5	8.3	7.9	8.1	7.3	6.8	6.3	8.9	8.5	7.7	7.3	16.0	0
	8	8.5	7.9	7.2	6.3	9.6	8.5	8.0	7.1	8.2	7.2	6.8	6.4	9.2	8.5	7.7	7.3	16.0	0
	9	8.7	7.8	6.8	6.4	10.0	8.4	8.3	7.1	8.3	7.1	6.7	6.3	9.3	8.5	7.5	7.3	16.5	0
	10	8.6	7.7	7.3	6.5	10.1	8.6	8.5	7.5	8.1	7.3	6.6	6.4	9.3	8.6	7.5	7.3	16.0	0
	11	8.7	7.8	7.4	6.6	9.6	8.4	8.5	7.8	8.2	7.2	6.5	6.3	9.3	8.1	7.5	7.3	15.8	0
	12	8.5	7.4	7.3	6.3	9.6	8.5	7.9	7.8	8.0	7.1	6.8	6.5	9.0	8.1	7.7	7.3	15.9	0

*[Signature]*  
 Balduino Largo Palacios Frisancho  
 BIÓLOGO  
 C.B.P. N° 2125

## ANEXO E


## CONSENTIMIENTO INFORMADO

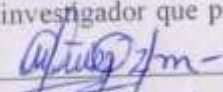
**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo Erika Flores Aduviri....., otorgo de manera voluntaria mi permiso para que se me incluya como sujeto de estudio en el proyecto de investigación: "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO E INFUSIÓN DE TIQUIL TIQUIL (*Aloysia triphilla*) VS MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) SOBRE LAS CEPAS DE *Prevotella intermedia* PUNO 2018", luego de haber conocido y comprendido en su totalidad, la información sobre dicho proyecto y los beneficios directos e indirectos de su colaboración en el estudio, y en el entendido de que:

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para ambos en caso de no aceptar la invitación.
- No haremos ningún gasto, ni recibiremos remuneración alguna por la colaboración en el estudio.
- Se guardará estricta confidencialidad sobre los datos obtenidos producto de la colaboración.

Fecha: 05-02-2018

Nombre y firma del voluntario:   
Erika Flores Aduviri  
DNI: 74945311

Nombre y firma del investigador que proporcionó la información para fines de consentimiento:   
Mariela K. Apaza Mamari  
DNI: 71584889



ANEXO F

GALERIA DE FOTOS

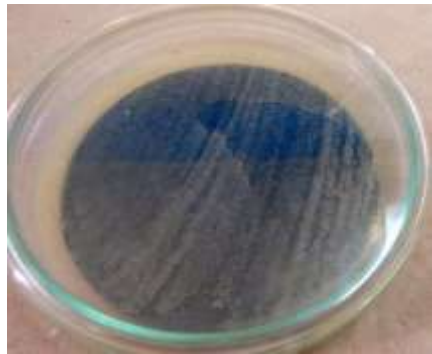
Secado de las plantas en una estufa a temperatura de 45 °C



Pesado de manzanilla y tiquil tiquil



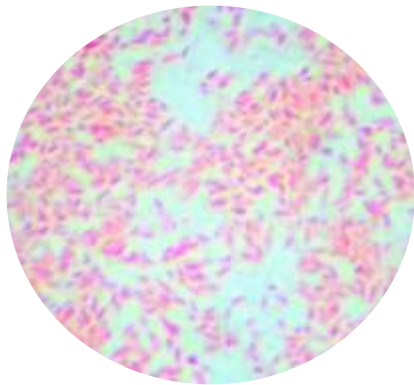
Obtención de la muestra



Incubación bacteriana por 24 horas a 37°C



Obtención del bacteroide



Disolución del agar



Sembrado del bacterioide en el medio de cultivo



Realizando pocillos en placas Petri.



Colocación de discos uniformemente para cada grupo



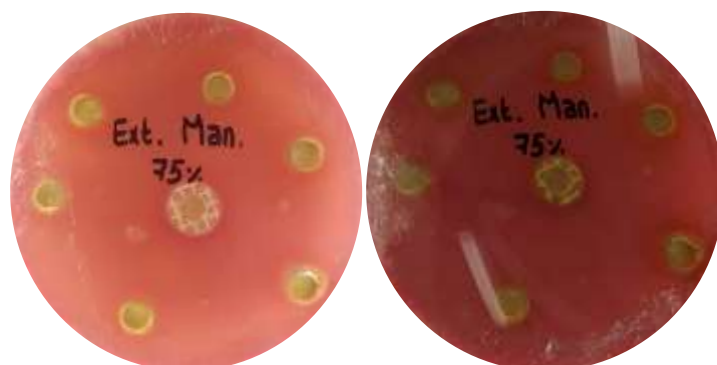
Aplicación de los tratamientos con una pipeta automática de 10 $\mu$ l



Midiendo los halos de inhibición



Comparación de halos de inhibición en mm a las 24 y 48 horas



Halos de inhibición en mm a las 24 horas

